

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**  
( Н И У « Б е л Г У » )

ИНСТИТУТ ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

**Кафедра биотехнологии и микробиологии**

**СИНТЕЗ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ СОЛЕЙ ТЯЖЁЛЫХ  
МЕТАЛЛОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ПЛЕСНЕВЫЕ ГРИБЫ РОДА  
*ASPERGILLUS***

**Выпускная квалификационная работа**  
студента очной формы обучения  
направления подготовки 19.03.01 - Биотехнология  
4 курса группы 07001419  
Ляховченко Никиты Сергеевича

**Научный руководитель:**  
Кандидат биологических наук,  
Профессор кафедры биотехнологии  
и микробиологии  
Сиротин А.А.

**БЕЛГОРОД 2018**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
1.1. Общая характеристика плесневых грибов .....	6
1.1.2. Конидии. Пигментация конидий и конидиеносцев.....	10
1.1.3. Мицелий. Колония.....	13
1.2. Специфические потребности плесневых грибов.....	15
1.3. Плесневые грибы - продуценты БАВ.....	17
1.4. Микозы.....	20
1.5. Некоторые методы и средства защиты от плесневых грибов.....	24
1.5.1. Фунгициды.....	27
1.5.2. Антимикотики.....	30
1.5.3. Методы защиты древесины при хранении.....	32
1.6. Роль тяжёлых металлов в биологических процессах.....	36
1.7. Токсичность солей тяжелых металлов.....	38
1.8. Влияние солей тяжелых металлов на плесневые грибы.....	40
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	40
2.1. Материалы исследования.....	40
2.2. Методы исследования.....	42
2.2.1. Методы синтеза наноструктурированных биологически активных соединений .....	42
2.2.2. Методы исследования антимикотической активности.....	54
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	63
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	92
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	94
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	101

## ВВЕДЕНИЕ

Плесневые грибы повсеместно распространены в природе. Многие из них способны осуществлять процессы жизнедеятельности в местах, характеризующихся минимальными количествами питательных веществ и повышенной, либо пониженной, влажностью, и при этом быть скрытыми от глаз человека. Например, виды *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus restrictus* характеризуются устойчивостью к высоким концентрациям солей и способностью роста при низкой влажности. Некоторые представители аспергиллов могут развиваться в широких пределах температуры. Плесневые грибы встречаются в почве, пищевых и кормовых субстратах при неблагоприятных условиях хранения, компостах, промышленных материалах и изделиях [2]. Споры грибов способны выдерживать колоссальные внешние нагрузки, с последующим прорастанием. Их значение для человека является амбивалентным, так как, плесневые грибы используются в биотехнологических производствах. Например, *Aspergillus niger* используется для синтеза лимонной, глюконовой, щавелевой кислоты; *Aspergillus oryzae* используют для приготовления основы соевого соуса, при производстве рисовой водки (саке), и др., *Penicillium roqueforti* и *Penicillium camemberti* при производстве сыров, плесневые грибы используют в качестве продуцентов антибиотиков, например, *Penicillium chrysogenum*. Кроме того, существует возможность использования хитина и хитозана грибов [1].

В то же время, плесневые грибы – угроза человеческому здоровью, сельскохозяйственному производству, животноводству. Могут поражать строительные материалы. Например, *Aspergillus fumigatus*, наиболее частый представитель рода *Aspergillus*, который является возбудителем аспергиллеза человека и животных. *Aspergillus flavus* продуцирует афлатоксины, обладающие канцерогенным действием для человека [8].

Факторы, представляющие опасность, совместно с возможностью использования в целях получения необходимого продукта для человека, обуславливаемые жизнедеятельностью плесневых грибов, подтверждают необходимость изучения и разработки методов борьбы с неконтролируемым заражением в производствах, а также способов лечения болезней, вызываемых грибами совместно с поисками технологий использования некоторых видов в промышленных масштабах человеком.

Актуальность данного исследования состоит в том, что соли тяжёлых металлов обладают фунгицидными и фунгистатическими свойствами, следовательно, модификация таких структур, а именно, нанокапсулирование, может способствовать образованию наноконструкций с отличными от нативных свойств, например, превосходящая эффективность действующего вещества. плесневые грибы рода *Aspergillus*, наряду и с другими представителями грибов, представляют серьезную угрозу для многих сфер деятельности человека, в том числе и для здоровья. Исходя из чего, становится необходимым поиск новых средств борьбы с плесневыми грибами-патогенами и модификации уже существующих веществ.

Цель работы – синтезировать наноструктурированные формы солей тяжёлых металлов и исследовать их влияние на плесневые грибы рода *Aspergillus*.

В связи с поставленной целью были сформулированы следующие задачи:

1. изучить характеристики плесневых грибов, их роль в жизни человека;
2. изучить свойства веществ, используемых для борьбы с плесневыми грибами-патогенами;

3. изучить влияние тяжелых металлов и их солей на плесневые грибы;
4. осуществить синтез наноструктурированных солей тяжелых металлов и исследовать их свойства;
5. исследовать антимикозную активность наноструктурированных солей тяжелых металлов на примере *Aspergillus niger*.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Общая характеристика плесневых грибов

Плесневые грибы объединяются в класс *Deuteromycota* (*Fungi imperfecti*). По современной классификации, класс *Fungi imperfecti*, или *Deuteromycetes*, входит в подотдел *Deuteromycotina*, который относится к отделу *Eumycota*, вместе с подотделами *Mastigomycotina*, *Zygomycotina*, *Ascomycotina*, *Basidiomycotina*. Классификация грибов основана на изучении их структур. Кроме того, для идентификации таксономической принадлежности к классу несовершенных грибов, важное значение имеет установление типа полового и бесполого размножения. Таким образом, необходимо рассмотреть морфологические характеристики талломов и других органов, совместно с характеристиками полового и бесполого размножения, чередования поколений.

Для плесневых грибов характерны разнообразные способы конидиального спороношения: образование конидий непосредственно на вегетативном мицелии посредством его фрагментации, почкования, а также образование выростов или сложно устроенных конидиеносцев, отличающихся морфологически от мицелия. При этом могут образоваться одиночные конидии или они формируют цепочки или головки. Имеют разнообразные форму и строение конидий.

Одной из первых подробно разработанных классификаций несовершенных грибов, получившей широкое распространение, является классификация П. Саккардо, основой которой составляют окраска мицелия и конидий, способ их образования и форма [11]. По этой системе дейтеромицеты делятся на три порядка:

1. *Hyphales* – конидии образуются на гифах вегетативного мицелия или на конидиеносцах, которые собраны в пучки – коремии, спородохии или же возникают одиночно на поверхности субстрата.
2. *Melanconiales* – конидиеносцы развиваются тесным слоем на погруженном в субстрат и состоящем из плотного сплетения гиф, ложе.
3. *Sphaeropsidales* – конидиеносцы образуются внутри шаровидных вместилищ – пикнид.

Данная система получила признание, но широкому распространения помешали присущие ей существенные недостатки.

Классификация А. А. Потебни, наиболее полно учитывающая эволюцию спорообразования у несовершенных грибов и включает в себя пять порядков:

1. *Hyphales* – конидиеносцы отходят от гиф или выступают на поверхность субстрата, одиночные или в пучках, но не сросшиеся. Конидии образуются на гифах почкованием или расчленением гифа.
2. *Coremiales* – конидиеносцы, сросшиеся в пучки, расположены на поверхности субстрата.
3. *Acervulales* – поверхностные, либо погруженные в субстрат, конидиеносцы развиваются сплошным слоем на сплетении гиф, образуя спороложе.
4. *Pseudopycnidiales* – конидиеносцы образуются в ложных пикнидах.
5. *Pycnidiales* – конидиеносцы в истинных пикнидах, хорошо выраженная оболочка [12].

Предложенные способы классификации продолжали модифицироваться, с целью создания более совершенной системы грибов с использованием иных критериев. Так была предложена систематизация Айнсворса [2] в которой класс *Deuteromycetes* делится на:

1. *Blastomycetes* – в основном, аспорогенные дрожжи.

2. *Hyphomycetes* – образуют конидии на простых конидиеносцах, в коремиях, спородохиях, хламидоспорах. Включают виды со стерильным мицелием.
3. *Coleomycetes* – образуют конидии в спороложах и спородохиях.

Таким образом, классификация и идентификация основана на изучении особенностей морфологии специализированных органов размножения, а именно, на морфологии конидиеносцев, способах образования конидий и т.д., следовательно, необходимо рассмотреть органы размножения несовершенных грибов: их морфологию, онтогенез, пигментацию, а также, рассмотреть разнообразие спор и спорогенеза.

Органы размножения несовершенных грибов представлены конидиеносцами – структурами, из обособленных ответвлений гиф, к которым прикрепляются споры, образующиеся из вегетативного мицелия и стромы. Ценность изучения таких образований для систематизации в том, что они имеют сложную структуру у многих видов, обеспечивая обильное конидиеобразование. Например, они могут быть отчетливо обособленными от вегетативных гиф и малоотличимы, или почти не отличаются от них и могут состоять из одиночной гифы, либо гиф, собранных в пучки – коремии [7]. Конидиеносцы бывают простыми и сложными. Простые образуют конидии на верхушке конидиеносца или его ответвлении. Ветвления конидиеносцев могут быть моноподиальными – боковые ответвления отходят от центральной оси; симподиальном, при котором центральная ось прекращает рост, а боковая ветвь служит неким продолжением центральной оси; от этого бокового ответвления отходит боковая ветвь следующего порядка, продолжая при этом центральную ось, и т. д. Кроме того, выделяют дихотомическое ветвление, при котором в точке роста образуются несколько последовательных вилкообразных разветвлений [Приложение 2].

Сложные конидиеносцы характеризуют различными разветвлениями и наличием верхушечного вздутия, на поверхности которых возникают фиалиды первого и второго порядков, несущие в себе конидии. Фиалидами называют конечную спороносящую клетку сложного конидиеносца. Также фиалидами называют верхушечные клетки ответвлений конидиеносца с конидиями, имеющие характерную, зачастую бутылковидную, веретеновидную, шаровидную формы.

Примером того, что органы размножения имеют морфологическое значение, может быть то, что у видов рода *Aspergillus* фиалиды расположены на головке, составляя сплошной слой, часто покрывающий всю поверхность вздутия, шаровидной, булавовидной, цилиндрически-булавовидной формы. Некоторые виды этого рода имеют двоярусные фиалиды, расположенных непосредственно на вздутии и несут несколько фиалид второго яруса –коремии (например, *Asp. ochraceus* и др.) [Приложение 1]. В свою очередь, у видов рода *Penicillium*, конидиеносцы имеют вид кисточек с веточками разного порядка, на которых образуется несколько фиалид. Нв их вершине образуются конидии в цепочках. По характеру ветвления такие кисточки подразделяются на симметрические и несимметрические.

Различают:

- Одноярусные кисточки;
- Двухярусные кисточки;
- Многоярусные кисточки.

У несимметричных кисточек мутовки расположены на верхушке односторонне отходящих веточек конидиеносца [Приложение 3]. Одни виды дейтеромицетов образуют конидиеносцы на гифах одиночно, а другие – скученно, сплошным слоем и т.д.

Спородохии – отдельные скопления коротких конидиеносцев, часто разветвленных, возникающие одновременно на прозо- или плектенхиматическом сплетении мицелия [Приложение 4].

Пионноты – сплошной слой спородохий на поверхности мицелия. Образуются однотипные конидии, покрытые слизью [5].

Пикнида – тело, внутри которого находится тесно скопление коротких простых или разветвленных конидиеносцев. Покрыта оболочкой – перидием.

Спороложе – плоское сплетение гиф, на поверхности которого тесным слоем располагаются конидиеносцы. Конидии образуются на кончиках свободных гиф [Приложение 4].

### 1.1.2 Конидии. Пигментация конидий и конидиеносцев

Для плесневых грибов характерно бесполое размножение, осуществляемое посредством спор, которые распространяются водой, животными, насекомыми, токами воздуха. Рассеиваются активно и пассивно на очень большие расстояния. Например, споры стеблевой ржавчины ржи обнаружены за 1 тыс. км от источника заражения. Такие данные свидетельствуют о большей эволюционной выгоде для размножения и распространения организмов [8].

Споры имеют различие между своими разновидностями по строению, способам образования, биологическому значению, что является одним из морфологических признаков, способствующим идентификации организма.

По скорости проростания – покоящиеся и пропативные.

По подвижности – подвижные и неподвижные. Подвижные споры известны как зооспоры и имеют жгутик, характерны, в основном, для

низкоорганизованных грибов. Большинству грибов характерны неподвижные споры.

По способу формирования – эндогенные и экзогенные.

Эндогенные споры образуются внутри спорангиев. Зооспоры – в зооспорангиях, которые представляют собой расширенный конец гифы, содержимое которой распадается на подвижные споры [8]. Спорангиоспоры формируются, например, у грибов из отдела зигомикота – мукоровые грибы.

В свою очередь, экзогенные неподвижные споры (конидии) образуются на специализированных гифах – конидиеносцах, или же на фиалидах. Молодые конидии имеют вид небольшого вздутия, которое после деления ядра отделяется перегородкой от конидиеносца и, продолжая рост, принимает форму характерную для определенного вида гриба. Конидии имеют весьма разнообразную оболочку, которая может быть бесцветной, или же в массе окрашены. Так же, различают по способам образования конидий в цепочках, при их образовании и сбора в цепочку, на акропетальный и базипетальный. В первом случае, более старая конидия располагается у вершины конидиеносца, от которой отпочковывается вторая, более молодая и т.д. Таким образом, верхней конидией становится моложе остальных в цепи. Во втором случае, при базипетальном способе, проявляется обратное явление – старые на вершине конидии, а молодые располагаются у основания (например, у *Penicillium, Aspergillus*) [Приложение 6].

Некоторые из грибов, такие, как *Fusarium* и др., образуют споры, отличающиеся между собой по размерам: макроконидии и микроконидии [5].

Макроконидии имеют морфологические элементы, представляющие интерес для идентификации. Среди них, наиболее

значимы их размеры, характер изогнутости, форма верхней клетки, наличие ножки у основания, количество перегородок [5].

Изогнутость конидий:

- Эллиптическая;
- Параболическая;
- Гиперболическая.

Для некоторых видов характерны угревидная изогнутость, звездчатость и др.

Для большинства видов, характерна коническая верхняя клетка. Но кроме того, у некоторых встречаются иные формы [Приложение 7]:

1. Слегка суженная, тупая, изогнутая или прямая;
2. Слегка суженная короткая;
3. Удлиненная и усеченная;
4. Сильно и резко суженная, удлиненная;
5. Нитевидно удлиненная, иногда загнутая.

Ножка у основания может быть четко выраженной, нечетко выражена, в виде сосочка, а у некоторых видов – отсутствует.

Количество перегородок обычно достигает 3 – 7.

Наличие или отсутствие микроконидий, также используют для диагностики отдельных видов, но только в случае их обильного и относительно постоянного образования.

По форме их различают на:

1. Овально-цилиндрические;
2. Эллипсоидальные;
3. Яйцевидные.

Для дейтеромицетов характерно формирование эндоконидий, происходит это путем деления цитоплазматического содержимого прямых конидиеносцев на отдельные клетки.

Пигментация конидий и конидиеносцев – морфологический признак, имеющий значение для диагностики дейтеромицетов. Разделение грибов по Саккардо на два семейства *Moniliaceae* и *Dematiaceae* основывается на таком признаке. Бесцветные или слегка окрашенные конидии и конидиеносцы – признак *Moniliaceae*, хотя этот критерий не стабилен, поскольку зрелые колонии и конидии могут быть темно-коричневыми, на этом основании можно легко их отнести к *Dematiaceae* [5].

### 1.1.3 Мицелий. Колония

Мицелий является сложной системой гиф с выраженной дифференциацией, которая проявляется у разных видов в неодинаковой степени. Это подразумевает собой один из морфологических признаков для идентификации грибка. Мицелий с перегородками называют многоклеточным или членистым, а гифы, лишенные перегородок – нечленистым или одноклеточным.

Различают погруженный, субстратный, воздушный или поверхностный мицелий. Многие грибы образуют ложную ткань, из которой состоят склероции, тяжи и т.д., образуемой путем плотного сплетения гиф, называется псевдопаренхимой, или плектенхимой. Прозоплектенхимой называют нитевидную форму гифальных клеток, сохраняемой в плектенхиме. Если же плектенхима состоит из клеток равного диаметра, то она называется параплектенхимой. Кроме того, грибы имеют такие видоизменения мицелия, как хламидоспоры, склероции, микросклероции, ризоморфы, мицелиальные тяжи и др [11].

Мицелиальные тяжи обеспечивают распространение гриба в субстрате, перемещение по гифам питательных веществ, выживаемость

при неблагоприятных условиях. Они представляют собой линейные гифы, образованные из вегетативного мицелия, которые могут неограниченно распространяться в длину. Часто встречаются, например, у родов *Penicilium*.

Хламидоспоры представляют собой крупные клетки с утолщенной оболочкой. Достигают размеров, в среднем,  $12 \times 12$  мкм, шаровидной или широкоовальной формы. Располагаются в виде клубочков или цепочек. Они имеют сложную оболочку: многослойная, гладкая, шиповатая, мелкобугорчатая. Цитоплазма хламидоспор содержит жировые включения, размеры и количество которых зависит от условий среды, качественного изменения субстрата. Предназначение хламидоспор заключается в сохранении вида при неблагоприятных условиях. В связи с чем, их главным отличием от других клеток, является их многоядерность, но их количество может варьироваться в пределах вида.

Склероции представляют собой комплекс септированных гиф в виде тел сферической или неправильной формы. Имеют часто темноокрашенный наружный слой, образуемый в следствии утолщения и меланизации оболочки, а внутренний – из рыхлой, неокрашенной ткани. Склероции устойчивы к действию неблагоприятных факторов и могут сохранять жизнеспособность долгие годы.

Различают два типа склероциев:

- Терминальные – на концах гиф;
- Интеркалярные – в отдельных фрагментах главных гиф.

Микросклероции – структуры менее выраженной дифференциации клеток гиф мицелия [5].

Характеристика мицелия обуславливает собой колонии грибов. Это форма верхушечного роста главной гифы и ее многочисленных ответвлений, которые распространяются от центра, образуя субстратный

и воздушный мицелий. Колонии развиваются радиально от точки посева исходной культуры путем роста гиф [5].

## 1.2 Специфические потребности плесневых грибов

Все организмы характеризуются своими видовыми особенностями преобразования среды обитания, добывая тем самым энергию для осуществления жизнедеятельности и размножения. Цель добычи энергии является тем фактором, который обуславливает столь широкий спектр механизмов взаимодействия с окружающей средой, получения субстрата для питания и т.д. В свою очередь, многообразие процессов извлечения питательных веществ, а впоследствии и энергии, является одним из критериев идентификации организмов, а также и эксплуатации видов для нужд человека.

Определение специфических потребностей организмов, позволит прогнозировать наличие более вероятных видов в среде, более эффективно моделировать условия культивирования в промышленности. Кроме того, возможно установить последствия жизнедеятельности для человека и его деятельности.

Плесневые грибы обнаруживаются в субстратах различного типа и по всему миру. Тем не менее, для некоторых видов, также присутствуют специфические потребности.

Наиболее существенными являются потребности в питательных веществах. Специализация грибов по питательным веществам, базируется на наличии ферментных комплексов для разложения нерастворимых источников углерода, например, крахмала, целлюлозы, лигнина, или же отсутствии таковых, в следствии чего он будет способен разлагать только растворимые органические вещества. Так же происходит селективное отношение к источнику азота, серы. Большой пищевой

независимостью характеризуются те, которые способны усваивать нитратный азот, что называют автотрофностью, чем исключительно в аммонийном или аминном, то есть, в органическом азоте. Кроме того, существует зависимость в том случае, если необходимы вполне определенные соединения азота. Ассимиляция грибом высокомолекулярных соединений азота определяет его специфические условия существования. Сера, в основном, поглощается в виде сульфата, иногда в форме серосодержащих аминокислот [3]. Витамины необходимы всем организмам, но некоторые грибы способны их синтезировать, подобно растениям, а некоторым необходимы части молекул, синтезированные предварительно.

Потребности в температурах являются вариативными для различных видов плесневых грибов. Большинство грибов переносят высокие температуры, но при этом развиваются в более высоких ее значениях (термотолерантность). Некоторые, например, *Rhizomucor miehei*, *Rh. pusillus*, нуждаются в тепле и прорастают только при +24°C, а некоторые, например, облигатные термофилы, при 33-55°C. Среди плесневых грибов обнаружены и психрофилы, существующие при относительно низких температурах. Эвритемные, растущие при самых различных температурах – *Asp. fumigatus*, stenотермные (развиваются только в узком диапазоне температур), также характерны для дейтеромицетов.

Зависимость от температуры может меняться при наличии других факторов, таких как, концентрации питательных веществ, осмолярность среды и ее окислительно-восстановительных потенциалов, и пр. [7].

Определение оптимальных температурных потребностей способствует эффективному культивированию и выходу продукта ферментации в промышленных масштабах наравне с потребностями в питательных веществах.

Определено, что на спороношение грибов влияет, так же, свет, особенно в коротковолновой области. Влияние света зависит от видов споруляции, при которых им может индуцироваться, стимулироваться, подавляться, либо не влиять вовсе. Кроме того, обнаруживается положительный фототропизм у некоторых воздушных гиф и спорангиеносцев [3].

Факторами, влияющими на жизнедеятельность грибов, являются также рН, окислительно-восстановительный потенциал, воздействие агентов, выступающих в качестве фунгицидов. В естественных условиях большое значение имеет взаимоотношения между различными видами организмов.

В целом, различают организмы, сильно зависящие от условий внешней среды, называют стенобионтами и эврибионтами, которые либо сильно реагируют на изменения в среде, либо менее чувствительны к изменениям, соответственно.

### 1.3 Плесневые грибы - продуценты биологически активных веществ

В процессах метаболизма грибов, продуцируются многие вещества, представляющие ценность либо вред для человеческой деятельности. Среди них ферменты, органические кислоты, антибиотики и токсины.

На примере аспергиллов, представляется возможным рассмотреть пользу и вред таких продуктов метаболизма, способствующих их жизнедеятельности, с антропоморфной точки зрения.

Продуцируемые ферменты представлены протеазами, амилазами, целлюлазами и некоторыми другими.

Протеазы обуславливают протеолитические свойства таких организмов как *A. flavus* и *A. oryzae*, проявляющиеся на широком спектре

белковых субстратов. Обнаружено лимитирование образования внеклеточных протеаз, в основном, источником азота в среде. Таким образом, активность внеклеточных протеаз зависит от концентрации и природы компонентов питательной среды.

Ферменты, широко применяемые в отраслях пищевой промышленности, такой как хлебопечение, получение глюкозы и патоки, а также в медицине – амилазы. Главные продуценты таких ферментов являются:

- *A. niger*;
- *A. awamori*;
- *A. orizae*;
- *A. fumigatus*;
- *A. flavus*;
- *A. ochraceus*;
- *A. nidulans*.

Промышленные продуценты характеризуются способностью синтеза полного комплекса амилазных ферментов в зависимости от штамма и условий культивирования. Амилазы, получаемые с использованием аспергиллов, более термостабильны и кислотоустойчивы, чем бактериальные [12].

Целлюлозолитические свойства позволяют осуществить процессы деградации целлюлозы. Это способствует трансформации целлюлозосодержащих растительных субстратов в природе, осуществляя при этом круговорот углерода. Наиболее активные продуценты целлюлаз – *A. terreus*, *A. fumigatus*, *A. amstelodami*, *A. oryzae*, *A. niger*, *A. flavus* [2].

Разные виды аспергиллов образуют целлюлазы, которые отличаются по компонентному составу, активности, свойствами [13].

Среди органических кислот, широко продуцируется лимонная кислота. Она применяется в кондитерской, виноделии, витаминной,

медицинской и пр. промышленности. Получают ее используя промышленные штаммы *A. niger*.

Наиболее известные антибиотики, продуцируемые аспергиллами:

- Фумигатин;
- Фумигацин;
- Фумигиллин;
- Охратоксин;
- Коевая кислота;
- Аспергилловая кислота;
- Неоксиаспергилловая кислота;
- Капдидулин.

Многие антибиотики, синтезируемые аспергиллами, являются токсичными и для растений, и для животных, человека. С этим связана минимальная эксплуатация таких антибиотиков [14].

К группе таких метаболитов, как токсины, относят вещества, оказывающие влияние на организм человека и животных, вызывающие микотоксикозы. Например, продуцируемые *A. flavus* афлатоксины.

Многие плесневые грибы, образуя продукты метаболизма, вызывают порчу пищевых продуктов. Так, при механических (либо иным способом, например, насекомыми) повреждениях плодов, происходит их заселение грибом. Размножаясь, они продолжают свое развитие как и до сбора урожая, так и после, при хранении, инфицируя при этом и другие плоды. Молоко представляет собой хорошую питательную среду для многих микроорганизмов, среди них и грибов. Характерно заражение «молочной плесенью» *Geotrichum candidum* и другие мицелиальные грибы, образующие плесневые налеты и пленки. Представителями порчи мяса и мясных продуктов, среди грибов, являются *Mucor*, *Rhizopus*. *Thamnidium*, служащие индикатором условий, при котором на мясе может

образовываться множество гнилостных бактерий, включая продуценты токсинов [8].

#### 1.4 Микозы

Плесневые грибки представляют угрозу здоровью человека, животных и растений. Среди них встречаются возбудители дерматомикозов, эпидермомикозов, поражающие кожу, волосы и ногти. Возбудители передаются при контакте с пораженным или при контакте с различными объектами окружающей среды. Некоторые из таких грибов обитают в почве и могут поражать при контакте человека с почвой [9].

Некоторые распространенные возбудители эпидермофитий [15]:

- *Epidermophyton floccosum* – вызывает антропоноз. Поражает кожу паховых складок, голеней, кожу межпальцевых складок и ногтевые пластинки. Быстро распространяется контактным путем в спортивных залах и душевых помещениях. В чистой культуре представляет собой комплекс бесцветных септированных гиф, крупных хламидоспор и макроконидий, расположенных группами на концах гиф;
- *Microsporum audouinii* – возбудитель антропонозной микроспории. В основном, поражает только человека. Поражаются кожа, волосы, довольно редко ногти. Микроспория, синонимична «стригущему лишая» - заболевание, поражающее, в основном, детей, вызываемое грибами рода *Microsporum*. Чистая культура представляет собой широкий септированный мицелий, макроконидии, микроконидии, хламидоспоры, диаметром около 30 мкм, и артроспоры;
- *Microsporum ferrugineum* – поражает кожу, волосы, редко ногти, в основном, человека. Чистая культура состоит из ветвистого септированного мицелия, хламидоспор и артроконидий;

- *Trichophyton tonsurans* – возбудитель антропонозной трихофитии у людей, чаще детей. Проявляется развитием воспаления и шелушения кожи. Артроконидии располагаются внутри волоса, надламывая их у поверхности кожи. Чистая культура представлена тонким редкосептированным мицелием, грушевидными или булавовидными микроконидиями, артроспорами, хламидоспорами, иногда макроконидиями со многими перегородками;
- *Trichophyton violaceum* – возбудитель антропонозной трихофитии у людей, чаще детей. Проявляется развитием воспаления и шелушения кожи. Артроконидии располагаются внутри волоса, надламывая их у поверхности кожи. Чистая культура – тонкий извитый малосептированный мицелий, разнообразные хламидоспоры. В старых культурах образуются артроспоры;
- *Trichophyton rubrum* – вызывает рубромикоз, который представляет собой распространенный микоз кожи, ногтей и пушковых волос. Один из наиболее частых возбудителей паховой эпидермофитии и эпидермофитии стоп. Чистая культура характеризуется септированными, ветвистыми нитями мицелияскопления булавовидных микроконидий и удлиненных макроконидий. При старении проявляются хламидоспоры;
- *Microsporum canis* – возбудитель зооантропонозной микроспории. Поражает кожу, волосы, ногти. Вызывает заболевание у кошек, собак, человека. Чистая культура – септированный мицелий, веретенообразные клеточные макроконидии с ворсистой оболочкой и округлые хламидоспоры;
- *Trichophyton verrucosum* – поражает крупный рогатый скот, телят, лошадей, ослов, коз, верблюдов, от которых заражается человек. Чистая культура состоит из септированного мицелия. Каплевидные или удлиненные микроконидии, необычные сферические макроконидии, хламидоспоры;

- *Microsporium nanum* – поражают кожу, волосы людей, реже – животных. Человек заражается при контакте с заболевшими свиньями.

Кроме того, в почве, древесине, преимущественно в отмирающей или гниющей, присутствуют возбудители подкожных заболеваний. Они внедряются в места микротравм кожи, вовлекая в процесс глубокие слои дермы, подкожные ткани, мышцы и фасции (споротрихоз, хромобластомикоз, феогифомикоз, эумикотическа мицетома).

Среди микозов выделяют оппортунистические микозы, вызываемые грибами родов *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Candida* и некоторые другие, встречающиеся в воздухе, почве, воде, гниющих растениях, древесине, а некоторые входят в состав факультативной микрофлоры человека, например, грибы рода *Candida* [15].

Данные роды плесневых грибков вызывают такие оппортунистические заболевания:

- *Candida* – возбудители кандидоза слизистых оболочек кожи, ногтей и внутренних органов.
- *Mucor* – вызывают фикомикоз, или зигомикоз. Поражают ткани мозга, ЖКТ, кожи и др.;
- *Rhizopus* – вызывают фикомикоз, или зигомикоз. Поражают ткани мозга, ЖКТ, кожи и др.;
- *Penicillium* – вызывают пенициллез при ослабленном иммунитете. Широко распространены в окружающей среде. Заражение происходит путем аэрогенного механизма вдыхания пыли, содержащей элементы гриба. Чистая культура – мицелий из септированных ветвящихся гиф, конидиеносца, на конце которого образуются первичные и вторичные разветвления – многомутовчатые кисточки. От вершин метул отходят пучки бутылкообразных фиалид, несущие цепочки округлых конидий зеленого, желто-коричневого, розового или фиолетового цвета;

- *Aspergillus* – при снижении иммунитета, 20 из 200 изученных видов являются наиболее частыми возбудителями аспергиллезов: инвазивный аспергиллез легких; аллергический бронхолегочный аспергиллез в виде астмы с эозинофилией и аллергического альвеолита; аспергиллезная мицетома. Имеют септированный, ветвящийся мицелий, конидии черного, зеленого, желтого и белого цветов. Конидии отходят от фиалид, находящейся на вздутии конидиеносца. Строгие аэробы;
- *Fusarium* – вызывают фузариоз у пациентов с ослабленным иммунитетом. При фузариозе поражаются кожа, ногти, роговица и пр. На среде Чапека грибы этого рода растут в виде пушистых колоний. Образуют хорошо развитый септированный мицелий белого, розового, красного цвета. Присутствуют микро-. Макроконидии и хламидоспоры. Макроконидии – многоклеточные, серповидные, а микроконидии – овальные, грушевидные.

Многие виды плесневых грибов являются возбудителями микотоксикозов – пищевые отравления, вызываемые токсичными веществами, образующихся при жизнедеятельности грибов [15]. В зависимости от продуцента токсина, выделяют основные формы микотоксикозов:

- Фузариотоксикозы;
- Споротрихиеллотоксикоз;
- Фузариограминеаротоксикоз;
- Фузарионивалетоксикоз;
- Синдром бери-бери;
- Эрготизм;
- Афлатоксины;
- Стахиботриотоксикоз.

Таким образом, плесневые грибы представляют значительную угрозу здоровью человека, особенно при сниженном иммунитете, после

трансплантации, либо иных видов хирургической деятельности. Наносят вред сельскохозяйственным производствам, поражая животных, растения. Совместно с поражением строительных материалов, пищевых продуктов и т.п., плесневые грибы не только продуценты полезных для человека веществ, но и одни из главнейших конкурентов жизнедеятельности в ореоле обитания человека. Они представляют опасность, также, при эксплуатации грибов в качестве продуцента для производственного персонала, в условиях неосторожности, либо халатности, что может приводить к поражению. Тем не менее, изучая эволюционные механизмы эффективного осуществления жизнедеятельности этих организмов, люди нашли способы использовать их в качестве антагонистов фитопатогенов. Отсюда следует необходимость разработке и поиске средств борьбы с грибами, но и использование грибов в качестве «оружия» против вредителей и возбудителей болезней, также должно развиваться и модифицироваться.

### 1.5.1 Фунгициды

Плесневые грибы являются устойчивыми объектами по отношению к внешним воздействиям, в основном, благодаря спорообразованию, что обеспечивает грибкам сохранность генетического материала с последующим проростанием, в неблагоприятных условиях. Кроме того, плесневые грибы стремятся захватить наибольшую площадь пространства, что реализуется разрастанием мицелия по всему субстрату. Данные факторы определяют сложность борьбы с такими объектами.

Эффективные средства подразделяются на физические и химические. К физическим относится высокая температура и давление, ультрафиолет, радиация. Тем не менее, существуют данные о том, что споры плесневых грибов проросли после выдержки их в условиях

космического вакуума, с воздействием солнечной радиации, ультрафиолетовых волн и т.п. [29]. К средствам химического воздействия относятся органические и неорганические химические вещества с характерными фунгицидными свойствами [26].

Фунгициды представляют собой группу пестицидов, используемых для профилактики и лечения микозов растений, животных и человека. Некоторые из них не оказывают токсического действия на растения, а наоборот, способствуют росту и развитию [35].

Фунгициды можно подразделить по характеру воздействия на профилактические, воздействующие на возбудителя до заражения, препятствуя его нормальной жизнедеятельности, предотвращая тем самым развитие болезни, но не уничтожающих возбудителя полностью, уже внедрившегося в органы и ткани (растительные), и лечебные, вызывающие угнетение и гибель патогенных грибков, после заражения. В случае профилактических фунгицидов, происходит подавление репродуктивных органов возбудителя и воздействие на них в месте инфицирования до заражения растения. Лечебные фунгициды поражают вегетативные и репродуктивные органы патогена, влияют на зимующие стадии, угнетая и ликвидируя возбудителя после заражения растения [35].

В случае борьбы с микозами растений, фунгициды подразделяют, также, по характеристикам распределения в растении вещества, на контактные (не проникают в растение, а действуют на возбудителя при непосредственном контакте) и системные (такие вещества усваиваются растением, перемещаются в нем и предупреждают заражение всего растения или уничтожают уже заразившего возбудителя) фунгициды.

Между контактными и системными фунгицидами существенная разница. Так, длительность воздействия контактных зависит от времени нахождения на поверхности растения и метеорологических условий, а системные фунгициды меньше зависят от метеорологических условий,

продолжительность их действия определяются скоростью и характером взаимодействия вещества и патогена [30]. Тем не менее, актуальны как и контактные, так и системные фунгициды. Отсюда следует, что целевое назначение фунгицидов обосновывает подразделение их на:

- Протравители семян;
- Фунгициды для обработки почвы;
- Фунгициды для обработки растений в период покоя;
- Фунгициды для обработки растений в период вегетации.

Использовать фунгициды для защиты растений необходимо в безопасных для него концентрациях, но токсичными для грибков. Для установления оптимальной концентрации фунгицидов, токсичной для возбудителя и безопасной для растения, используют хемотерапевтический индекс, который представляет собой отношение минимальной дозы яда  $s$ , убивающей возбудителя болезни, к максимальной дозе  $t$ , безвредной для растения:  $s/t$ . Чем ниже хемотерапевтический индекс, тем выше качество фунгицида [35].

По химическому составу фунгициды подразделяются на:

- Медьсодержащие соединения;
- Препараты группы серы;
- Соединения ртути;
- Производные дитиокарбаминовой кислоты;
- Нитрофенолы;
- Комбинированные фунгициды;
- Препараты сборной группы;
- Системные фунгициды.

Описана проблема грибкового поражения глаза человека, вызываемая такими представителями плесневых грибков, как *Acremonium*, *Sporothrix spp.*, *Raecilomyces*, развивающегося после травмы, хирургического лечения или закапывания нестерильного раствора. В

настоящее время, характеризующееся интенсивным хирургическим вмешательством, условиями жизни человека, трансплантацией органов и т.п., грибковая инфекция может быть проблемой в многопрофильных стационарах [27]. Исходя из этого, существуют фунгициды, используемые офтальмологами для профилактики и лечения грибковой инфекции глаза [Приложение 8].

### 1.5.2 Антимикотики

Поражение человека грибами представляет собой серьезную проблему для фармацевтов и медиков, обусловленную необходимостью проведения длительной терапии, сопутствующим фоном сниженного иммуно-биологического состояния организма пациента и т.п.

Большая часть антимикотиков поражают цитоплазматические мембраны клеточных стенок грибов, подавляя синтез их основных структур на разных уровнях, вмешиваясь в превращение ацетатов в эргостерол [37]. Относительно возбудителей микозов, вещества проявляют вариативное воздействие:

- Для плесневых грибов – гризеофульвин не активен; кетоконазол активен только при повышенных дозах; флуконазол проявляет активность при повышенных дозах; интраконазол является высокоактивным, а тербинафин, в зависимости от вида патогена – активен при высоких концентрациях, либо не действует вовсе;
- Для грибов рода *Candida* - гризеофульвин не активен; кетоконазол является высокоактивным; флуконазол проявляет высокую активность; интраконазол является высокоактивным, также, как и тербинафин, высокоактивный;
- Для возбудителей глубоких микозов кетоконазол, флуконазол и итраконазол активны только при высоких дозах, а тербинафин – в

зависимости от вида – не активен, либо активен при высоких дозах. Гризеофульвин не проявляет активности;

- Для дерматофитов кетоконазол, гризеофульвин, итраконазол и тербинафин являются очень высокоактивными, а флуконазол – активен при высоких концентрациях.

Таким образом, одни и те же вещества проявляют различное воздействие на организмы различных видов, что обуславливает необходимость разработки практически индивидуальных средств борьбы и лечения.

В зависимости от типа действия:

- Фунгицидные антимикотики;
- Фунгистатические антимикотики.

По источнику получения выделяют синтетические и природные [37]. К противогрибковым препаратам относится ряд соединений различных групп:

- Полиеновые антибиотики (нистатин, леворин, амфотерицин В, амфоглюкамин, микогептин);
- Синтетические препараты группы имидазола (кетоконазол, флуконазол);
- Производные триазола, аллиламинов, антибиотик, продуцируемый *Penicillium nigricans* (итраконазол, тербинафин, гризеофульвин).

Полиеновые антибиотики обладают фунгистатическими и, в высоких дозах, фунгицидными свойствами. При приеме внутрь, они практически не всасываются, потому в ЖКТ накапливаются концентрации, достаточные для ингибирования соответствующих организмов, прежде, чем выйдут с калом. Механизм действия заключается в образовании комплексов с стеаринами мембран, делая ее проницаемой с выходом низкомолекулярных водорастворимых соединений [26]. Полиеновые антибиотики проще переносятся больными, особенно больными с тяжелыми и хроническими формами заболеваний.

Синтетические препараты группы имидазола обладают широким спектром фунгицидного действия и при поверхностном, и при системных микозах (например, кетоназол и флуконазол).

Производное триазола - итраконазол (орунгал) активен в отношении дерматофитов (*Trichophyton spp.*, *Microsporum spp.*, *Epidermophyton floccosum*), *Aspergillus*, *Histoplasma spp.*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea spp.*, *Cladosporium spp.*, *Blastomyces dermatitidis* и др.) Механизм противогрибкового действия заключается в ингибировании синтеза эргостерола – важного компонента клеточной мембраны. При приеме внутрь итраконазол полностью абсорбируется, его максимальная концентрация определяется в плазме через 3–4 ч. Накапливается в коже и ее придатках, подкожной клетчатке, легких, почках, печени, костях, желудке, селезенке и мышцах.

Орунгал быстро распадается в печени на большое число метаболитов, многие из которых обладают противогрибковой активностью. Выводится препарат в виде неактивных метаболитов, в основном с испражнениями и мочой. Уже через 2-4 ч после приема начинается его накопление в тканях и постепенное исчезновение из плазмы крови.

Среди побочных эффектов чаще встречаются дисфункции ЖКТ, реже сыпь и головокружение, сонливость, артериальная гипертензия.

Противопоказанием к применению - чувствительность к препарату, беременность и кормление грудью.

Производное аллиламина тербинафин (ламизил) обладает широким спектром противогрибкового действия. Эффективен в отношении дерматофитов, плесневых грибов. При пероральном применении препарат накапливается в коже и ногтевых пластинках в концентрациях, обеспечивающих фунгицидное действие; выводится с мочой. Механизм действия тербинафина связан с подавлением раннего этапа биосинтеза

стеринов в клетке гриба, что приводит к дефициту эргостерина и внутриклеточному накоплению сквалена и вызывает его гибель. Кроме того, он подавляет активность скваленэпоксидазы клеточной мембраны грибка. Ламизил не действует негативно на эндокринные органы даже при длительном применении, практически не связывается с цитохромом P450 и поэтому не влияет на метаболизм различных медикаментозных средств. Препарат не обладает эмбриотоксичностью, тератогенным и мутагенным свойствами. Ламизил не действует отрицательно на метаболическую активность лейкоцитов, хемотаксис, фагоцитоз [37].

Гризеофульфин – антибиотик, продуцируемый *Penicillium nigricans* – обладает фунгистатическими свойствами. При кандидозе неэффективен. Механизм действия заключается в связывании с образованием комплексов с РНК, угнетая синтез белка и нарушения структуры клеточной стенки грибка.

### 1.5.3 Методы защиты древесины при хранении

Древесина необходима человеку и как строительный материал и как сырье для производства бумаги. Исходя из потребности в качественном материале, необходимо защищать сырье от разрушающих его факторов, например, целлюлозоредуцирующих плесневых грибков.

Достигается защита при хранении древесины и продуктов ее переработки путем соблюдения правил ее складирования, хранения и использование лесоматериалов, санитарии склада, размещения склада в зависимости от типа хранения и т.д.

Методы хранения древесных материалов соответствуют типу этих материалов. Так, для хранения круглого леса, в зависимости от его назначения, применяют такие способы как сухой, влажный, химический [35].

Сухой способ основан на ускоренной атмосферной сушке древесины до остаточной влажности в 25% и ниже. В таких условиях большинство грибков не способны развиваться и проростать. Однако такой способ требует осторожности, так как при влажности ниже 20% торцы круглых лесоматериалов растрескиваются.

Влажный способ хранения круглого леса основан на неспособности грибков развиваться при очень высокой влажности, например, 150% для хвойных. В зависимости от вариаций приемов удержания влаги, различают хранение в плотных штабелях без дополнительного увлажнения, с дополнительным увлажнением, водное хранение, замораживание. Для каждого из методов существуют свои регламенты, требующие точности выполнения, с целью предохранения от порчи материалов, с дальнейшим получением прибыли максимальной от сбыта качественного продукта.

Химические способы заключаются в обработке антисептиками при укладке в штабеля и после. Химическая обработка:

- Полная (по всей длине или большей части – от 60 да 100%. Проводят при рядовой укладке);
- Частичная (боковая часть 30-50%. Проводят при плотной укладке бревен).

При обработке химическим способом чаще всего используют водные растворы:

- 5-10% раствор соды или медного купороса;
- 1%-ный пентахлорфенол;
- 3%-ный фтористый натрий и др.

Для защиты пиломатериалов от поражения грибками применяют естественную сушку и антисептирование. Наиболее действующим является быстрая и качественная сушка в специальных сушильных камерах, однако, при больших заказах на поставки, необходимое

количество сушильных камер для своевременной сушки финансово и технически затруднительно реализовать.

Естественная сушка проводится в течении теплого времени года, с продолжительностью от 10-40 суток в летнее время, и 35-64 – в осеннее, в зависимости от толщины пиломатериала [35].

Для осуществления естественной сушки необходимо:

- Соответствующая планировка склада;
- Устройство подштабельных фундаментов;
- Соблюдение определенной системы укладки;
- Устройство штабельных крыш;
- Постоянная циркуляция воздуха в штабеле.

Антисептирование проводится с целью избежания порчи от плесневых и древоокрашивающих грибов при медленном просушивании, путем обработки анитисептическими веществами: 5-10%-ным раствором двууглекислой соды, 5%-ным раствором буры, 1-2%-ным раствором комбинированного препарата ГР-48, 3%-ным раствором фтористого натрия, 8%-ным нефтористым магнием [35].

Обработку проводят опрыскиванием или погружением досок в раствор антисептика через 2-3 дня после распиловки.

## 1.6 Роль тяжёлых металлов в биологических процессах

К группе тяжелых металлов относятся все металлы, имеющие удельный вес более 4, 5 г/см<sup>3</sup>. Они широко распространены в окружающей среде, имеющие как позитивное значение, так и негативное для организмов. В небольших концентрациях для нормального функционирования биосистем, входящие в группу макромолекул биогенного свойства, входя в состав многих ферментов. В высоких

концентрациях представляют собой угрозу нормальной жизнедеятельности живой системы [16].

Исходя из того, что высокие концентрации тяжелых металлов опасны для организмов, актуализируется проблема загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами, что ставит их в ранг приоритетных групп загрязнителей, являясь факторами деградации окружающей среды. Накопление тяжелых металлов в среде обитания человека, привело к формированию техногенных аномалий, подразделяющихся по Перельману на три типа [40]:

1. Глобальные, охватывающие весь земной шар;
2. Региональные, занимающие отдельные части материка, регионы;
3. Локальные, имеющие радиус до нескольких десятков километров от источника загрязнения.

Локальному увеличению концентрации металлов в окружающей среде способствует развитие промышленности, перерабатывающих технологий. Они могут распространяться посредством вод, организмов, людей и животных на большие расстояния [41].

Загрязнение окружающей среды проявляется на детях, так как металлы накапливаются еще в плаценте, что приводит к формированию врожденных уродств, снижению иммунитета, развитию болезней, задержке умственного и физического развития и пр. Тяжелые металлы обладают широким спектром воздействия на организм человека, влияя практически на все системы организма [42].

К тяжелым металлам относятся ртуть, свинец, кадмий, кобальт, медь, железо. Благодаря миграционной способности, склонности к биоаккумуляции, специфической токсичности, попадая в корма и продукты питания, представляют опасность не только для человека, но и для животных.

Тяжелые металлы и их соединения, обладающих высокой токсичностью для живых организмов не разрушаются в почве, воде, растениях и органах, накапливаясь, вызывая патологические изменения. Некоторые оказывают канцерогенное и мутагенное влияние [16].

Многие тяжелые металлы проявляют склонность к комплексообразованию, в том числе и с белками, что обуславливает вариабельность воздействия на организм.

Токсическое действие тяжелых металлов обусловлено такими факторами, как: электроотрицательность, степень окисления элемента в соединении, размер частиц соединения, растворимость, устойчивость соединений в жидких биосредах и степень гидратации образующихся ионов, гидролиз, растворимость и реакционную способность продуктов гидролиза, способность соединения существовать в коллоидном и твердом состоянии в тканях, возможность образования хелатных комплексов [44].

Таким образом, роль тяжелых металлов в биопроцессах является неоднозначной. В небольших дозах они являются необходимыми организмам, некоторые входят в состав важных соединений. В концентрациях выше необходимой нормы, тяжелые металлы выступают в роли ксенобиотиков, абиогенных факторов.

Кобальт входит в состав витамина В<sub>12</sub>. Суточная потребность человека в этом витамине составляет всего 3 мкг, а недостаток приводит к таким последствиям, как анемия и остановка роста. Существует несколько форм такого витамина, представляющих собой кофакторами ферментов в реакциях переноса метильной группы, а также в тех реакциях, в которых кобальт подвергается изменению состояния окисления.

Кобальт, находящийся в форме иона в организме способен к связыванию четырех, пяти и шести донорных атомов в разного рода координационных полиэдрах. Ионы кобальта и цинка имеют сходные ионные радиусы для всех координационных чисел, что позволяет кобальту замещать цинк в некоторых ферментах, часто давая тоже активные ферменты.

Избыток ионов кобальта (II) стимулирует костный мозг к продуцированию эритроцитов, а также уменьшает способность щитовидной железы аккумулировать йод, следовательно, зубная болезнь может быть следствием приема солей кобальта при анемии [41].

Никель в биосистемах встречается почти всегда в виде двухвалентного иона. Низкие уровни никеля (II) являются стимулирующими для животных. Служит кофактором для растительного фермента уреазы. Активирует определенные ферменты у животных, но необходимость для человека не доказана.

Токсичность ионов никеля проявляется вызовом острого желудочно-кишечного дискомфорта. Хроническая интоксикация приводит к разрушению сердечной и других тканей. Никель блокирует ферменты и реагирует с нуклеиновыми кислотами [41].

Концентрации меди в организме регулируются процессами гомеостаза. Ее оптимальные концентрации варьируются в широких диапазонах. Именно поэтому ни дефицит, ни токсичность не являются частным случаем. Медь является необходимым кофактором для ферментов, катализирующих разнообразные окислительно-восстановительные реакции. Дефицит приводит к анемии, плохому состоянию костной и соединительной тканей, потере пигментации волос. Медь связывает сульфгидрильную группу в глутатионе и серусодержащих белках, поэтому организму необходимо связать ионы

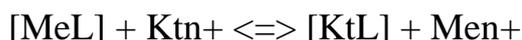
меди (II) до того, как они окислят сульфгидрильную группу. В организме около 95% меди в плазме крови находится в составе белка церуплазмينا.

Значительные концентрации меди, попадая в ЖКТ, раздражают нервные окончания в желудке и кишечнике, вызывая рвоту. При избытке наблюдается остановка роста, гемолиз и низкое содержание гемоглобина, а также нарушение тканей в печени, почках, мозге.

Исходя из этого, актуальным относительно значения тяжелых металлов становятся слова Парацельса в наиболее популярном их изложении: «Все – яд, все – лекарство; и то и другое определяет лишь доза».

### 1.7. Токсичность солей тяжелых металлов

Токсичность солей тяжелых металлов проявляется через способность катионов образовывать более прочные комплексные соединения с бионеорганическими лигандами, которые в общей схеме можно выразить как:



где  $[MeL]$  - комплекс биогенного металла (Fe, Zn, Cu или других металлов) с биоорганическим лигандом,  $K^{n+}$  - катион тяжелого металла. Если устойчивость комплекса  $[KtL]$  больше, чем устойчивость комплекса  $[MeL]$ , то равновесие смещается в сторону прямой реакции. В результате этого начинается токсикоз [41].

Например, медь характеризуется способностью образования хелатных комплексов с тиольными группами и аминогруппами белков. Белки становятся нерастворимыми и теряют ферментативную активность.

Тяжелые металлы характеризуются низкими значениями энергии ионизации, что приводит к их высокой активности, и стандартного электродного потенциала [45].

Тяжелые металлы способны вступать в реакции изомерного замещения в ферментах, что меняет и места связывания, и конформацию макромолекулы в целом.

В общей схеме, токсическое действие основано на взаимодействии между тяжелыми металлами и биологически активными белками [41].

При этом наблюдаются такие процессы, как:

- Вытеснение необходимых металлов из их активных мест связывания токсичным металлом;
- Связывание части макромолекулы, необходимой для жизнедеятельности;
- Образование соединений, вредных для организма;
- Деполимеризация важных макромолекул;
- Неправильное спаривание оснований нуклеотидов, что приводит к ошибкам синтеза.

Токсичность меди проявляется в функциональных изменениях в водных организмах. На сине-зеленых водорослях показано токсическое действие этого металла при концентрации  $10^{-7}$  М, где было выявлено ингибирование фиксации азота [43]. В низких концентрациях, медь ингибирует фотосинтез у водорослей. Кроме того, влияние меди для водорослей проявляется так же и в таких процессах как:

- Метаболизм кремневой кислоты;
- Рост;
- Питание;
- Воспроизводство
- Поведение.

Выявлено мутагенное воздействие сульфата никеля для *Saccharomyces cerevisiae* D7, лимфомы мышей, клеток китайского хомячка, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* [41].

Таким образом, тяжелые металлы и их соли могут воздействовать на различные уровни функционирования организма, влияя на физиологические процессы, нарушая нормальную жизнедеятельность.

### 1.8. Влияние солей тяжелых металлов на плесневые грибы

Влияние солей тяжелых металлов на различные организмы достаточно выражены, то же справедливо и для плесневых грибов. Медьсодержащие фунгициды применяют в различных областях с целью предохранения от поражения и негативного влияния грибов.

Исследования влияния солей тяжелых металлов на плесневые грибы показывают, что при концентрации  $ZnSO_4$  равной 0.25 М они способны расти и размножаться. Путем селекции можно вывести грибки, способные осуществлять свою жизнедеятельность при 0.5 М, что свидетельствует о адаптируемости грибков к концентрациям солей металлов [16].

Внесение солей тяжелых металлов в среду, создают не только риски повреждения токсичными элементами, но и осмотические факторы, которые способствуют повышенным затратам энергии на осуществление жизнедеятельности, что приводит к ослаблению организма грибка и ингибированию его развития, чему способствуют, так же и изменения соотношений потребностей питательных веществ, необходимых для развития [16]. Характерная для грибков металлорезистентность определяет необходимость подбора концентраций, которые будут

ингибировать его развитие. Так, *Aspergillus niger* устойчив к повышенной концентрации таких тяжелых металлов, как сурьма, мышьяк и т.д., но  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  токсичен в концентрации 1, 2 мг/л,  $\text{CoCl}_2$  – 0, 7, металлическая ртуть – 0, 1,  $\text{NiCl}_2$  – 0, 9,  $\text{NiSO}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  – 0, 4 мг/10 мл [2].

Кроме того, характерно для меди, нарушение металлолигандного гомеостаза, нарушение процесса обмена веществ, ингибирование ферментной активности, разрушение метаболитов (АТФ, клеточные мембраны), нарушение градиента концентрации ионов в клетках [18].

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

## 2.1. Материалы исследования

Объектами данного исследования являются: *Aspergillus niger*; соли тяжелых металлов, а именно  $\text{NiSO}_4$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{CoSO}_4$ ; материалы, используемые в качестве оболочек при нанокapsулировании; наноструктурированные соли тяжёлых металлов.

Пигментация колоний *Aspergillus niger* дает черную или бурую окраску (Рис.1.Б.). Субстратный мицелий белого цвета (встречается и жёлтый) (Рис.2.А.). Конидиальные головки различных оттенков черного цвета, шаровидные, конидиеносцы бесцветные с гладкими оболочками (Рис.1.В.)

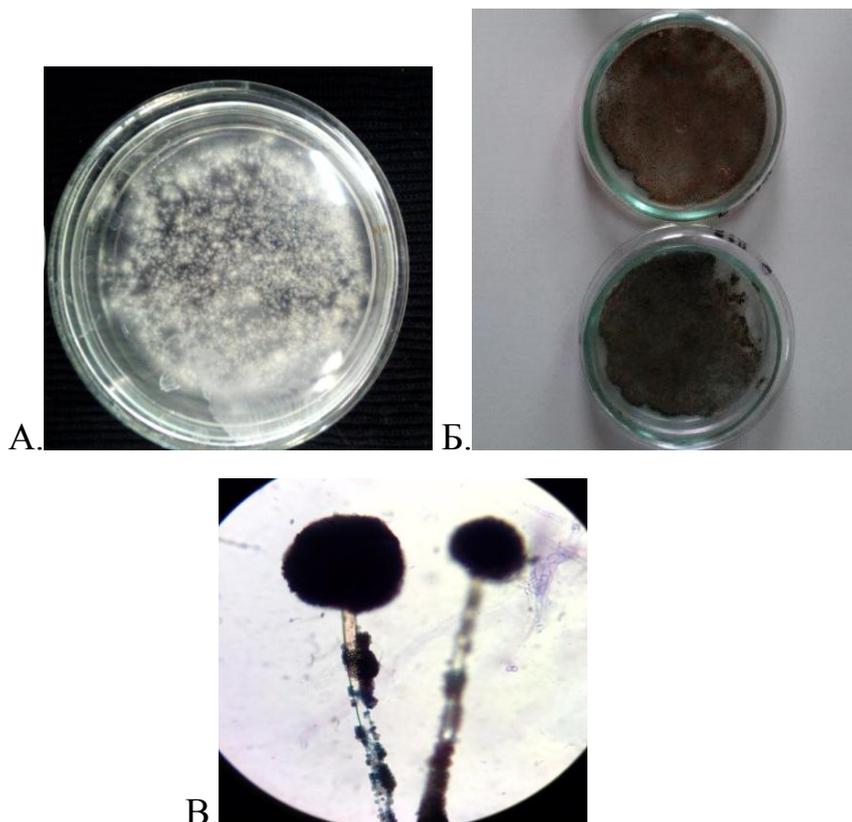


Рис.1. А) фотография колоний до спороношения; Б) фотография колоний при спороношении; В) фотография конидиальных головок при микроскопировании.

Данные показатели подтверждают принадлежность к группе *Aspergillus niger* исследуемого объекта [2].

Свойства сульфатов тяжёлых металлов приведены в обзоре литературы.

В качестве оболочек при нанокапсулировании в данной работе использовали альгинат натрия, каррагинан и желлановую камедь.

Альгинат натрия (E401) используется в пищевой промышленности как загуститель, гелеобразователь (в десертах, плавленых сырах, творожных изделиях, консервированных овощах и грибах, мороженом), стабилизатор, влагоудерживающий агент в хлебе и кондитерских изделиях. Кроме того, часто используют в качестве вспомогательного средства для иммобилизации ферментов. Получают его из альгиновых кислот, содержащихся в водорослях с последующей обработкой раствором щёлочи и очищение раствора альгината.

Внешний вид: желтовато-белый, иногда с сероватым оттенком, волокнистый порошок или гранулы.

Молекулярная масса: 32 000-600 000.

Физико-химические свойства: медленно образует вязкий коллоидный раствор в воде, нерастворим в спирте, орг. растворителях [72].

Каррагинан (E407) представляет собой желтовато-белый мелкий порошок без запаха с молекулярной массой от 200 000 до 400 000. Его применяют в пищевой промышленности как загуститель, желирующий агент, стабилизатор, осветлитель и в качестве носителей для иммобилизации ферментов. Содержится в стенках клеток красных водорослей (*Rhodophyceae*), преимущественно *Euchema cottonii* семейства *Soleraceae*. Качество оценивают по показателям стабильности и прозрачности стандартного геля. Хорошо растворим в горячей воде, нерастворим в орг. растворителях [72].

Желлановая камедь (E418) представляет собой биополимер, состоящий из D-глюкозы, D-глюкуроновой кислоты и D-рамнозы в соотношении 2:1:1, природная – приблизительно наполовину ацелирована. На внешний вид – желтовато-белый сыпучий порошок с молекулярной массой около  $10^6$ . Физико-

химические свойства зависят от степени ацетилирования и чистоты. Камедь с ацетильными группами – хороший загуститель со слабыми желирующими свойствами. Деацетилированная камедь – хороший желирующий агент. Хорошо растворяется в горячей воде, а в холодной воде – средне растворима. Нерастворима в органических растворителях.

Природный источник – межклеточное пространство *Pseudomonas elodea* [72].

Свойства синтезированных солей тяжёлых металлов исследованы и приведены ниже.

## 2.2. Методы исследования

### 2.2.1. Методы синтеза наноструктурированных биологически активных соединений

В настоящее время разработаны множество способов капсулирования (как микро- так и нано-) различных веществ и их применения в различных областях [46]. Формирование капсул из органических веществ можно объяснить действием сил водородных, ван-дер-ваальса и донорно-акцепторных связей при доминирующем вкладе первых [46]. В результате, к примеру, для поливинилового спирта (ПВС) полная поверхность оболочки капсулы  $S_c$  всегда оказывается существенно больше внешней поверхности ядра  $S_n : S_c \gg S_n$ . В этих условиях наиболее вероятным становится формирование мицелярно-подобных комплексов, в которых внешняя оболочка капсулы является нейтральной, тогда как инкапсулированное вещество ядра и внутренняя часть оболочки образуют бифильные связи. Характерно, что полимерные мицеллы обладают рядом очевидных преимуществ: высокая стабильность как *in vitro*, так и *in vivo*, достаточно узкое распределение по размерам, уникальная архитектура – «ядро-оболочка», осуществляется защита неустойчивых

органических соединений от химического разрушения и метаболизма биологических агентов [46]. Выбор полимерной основы как оболочки, так и ядра создает благоприятные условия для формообразования микро- и нанокапсул в широком диапазоне размеров, степени упаковки, молекулярной массы, структуры и формы, что обеспечивает целевую доставку органических соединений в различные пищевые продукты. Как показано [47], микро- и нанокапсулирование вновь синтезированных биологически активных соединений с использованием молекулярного дизайна открывают перспективы для исследования процессов взаимодействия сложных биохимических и биофизических систем.

Кристаллические наночастицы, как правило, получают или в виде частиц контролируемой кристаллизации, или – высоких энергий. Примеры последних включают влажное фрезерование и высокое давление гомогенизации. Третий подход был сообщен совсем недавно. Кристаллизация и снижение размеров частиц были объединены для получения наносuspensions. Это комбинированный процесс, в котором используются преимущества обеих кристаллизаций. Кристаллизация предназначена для производства нестабильных частиц, которые являются хрупкими. Эти частицы разрушаются и стабилизируются высоким давлением гомогенизации [48]. В таблице 1 приведены некоторые из методов, используемых для подготовки кристаллических наночастиц. Полученные таким образом наночастицы стабилизируются биосовместимыми поверхностно-активными веществами (фосфолипиды, полисорбаты, поликсамеры и т.д.).

Таблица 1.

Различные способы получения кристаллических и наночастиц [48]

Технология	Тип полученных частиц	Размер частиц
Свободная эмульсия	Полимерные	Размер частиц зависит

	наночастицы	от размера дисперсии
Двойная эмульсия		100-1000 nm
Аэрозольное напыление	Полимерные или липидные наночастицы	Преимущественно 200 nm
Осаждение газом- нерастворителем	Полимерные наночастицы	400-600 nm
Наноосаждение	Полимерные или кристаллические наночастицы	Более 100 nm
Температурно- индуцированный фазовый переход	Полимерные наночастицы	Смесь сополимера молочной и гликолевой кислот с биологически- активным веществом, охлажденная до образования нанопленки
Гомогенизация под высоким давлением	Полимерные, липидные или кристаллические наночастицы	Более 300 nm
Размалывание суспензии	Кристаллические наночастицы	Менее 100 nm
Гомогенизация микроосадков	Кристаллические или полимерные наночастицы	
Осаждение более тяжелым веществом	Полимерные наночастицы	

В связи с очень низким уровнем использования наполнителей, снижается токсичность.

Некоторые из наиболее важных вопросов в применении наносuspензий:

1. Наночастицы должны быть стабильными
2. Наночастицы должны быть свободны от загрязнений с любых носителей, используемых в процессе обработки
3. Процесс получения наночастиц должен отвечать требованиям стерильности
4. Поверхностно-активные вещества должны быть пригодны для приема перорально [47,48].

Проблема стабильности наносuspензий может решена путем тщательной оптимизации поверхностно-активных веществ, которые будут использоваться в их составе. Устойчивость наносuspензированных препаратов также может быть достигнута сублимационной сушкой, или, в крайнем случае, за счет сохранения суспензии в замороженном состоянии [48].

Полимерные наночастицы состоят из препаратов, диспергированных в аморфном виде в полимерной матрице. Такие частицы могут быть представлены как наносферы, в которых препарат распределен равномерно по всей матрице частиц (обычно в виде твердого раствора в полимере), или, как нанокапсулы – где препарат присутствует в ядре частицы (или как твердый раствор или раствор в масле) [49]. Полимерные наночастицы как правило, готовят из биоразлагаемых полимеров. В первых работах в основном в качестве оболочки полимерных наночастиц обычно использовался полилактид, а также сополимер молочной и гликолевой кислот. Последующие исследования выявили использование различных других биоразлагаемых полимеров, включая полиангидриды, полицианоакрилаты и

полиортоэфир [50,51]. Полимерные наночастицы получают с применением обычных эмульсий. Технологии получения полимерных наночастиц представлены в таблице 1.

В связи с развитием и специализацией технологий инкапсуляции, продукты отличаются по структуре и имеют разные наименования (таблица 2) [49,52,53].

Таблица 2

## Терминология инкапсуляции [53]

Название	Описание	Размер	Изображение
Микрокапсулы	Частицы, содержащие жидкие ядра и твердые оболочки	μм	
Нанокпсулы	Структура как у микрокапсул, но размер меньше	нм	
Микросферы	Частицы, содержащие твердые ядра и твердые оболочки	μм	
Наносферы	Структура как у микросфер, но размер меньше	нм	
Липосомы	Липидная оболочка, часто из фосфолипидов и холестерина. Подтипы: однослойные и многослойные	от μм до нм	

Ниосомы	Структура как у липосом, но оболочка изготавливается из синтетических амфифильных молекул		
---------	---	--	--

В данный момент единая система классификации методов микрокапсулирования не разработана. Этим занимаются и занимались многие ученые.

Так, по данным, опубликованным в российской литературе [54] методы получения микрокапсул могут быть разделены на три основные группы. Первая группа – физико-химические методы, которые включают коацервацию, осаждение нерастворителем, образование новой фазы при изменении температуры, упаривание летучего растворителя, отверждение расплавов в жидких средах, экстракционное замещение, высушивание распылением, физическую адсорбцию. Ко второй группе относятся химические методы: образование новой фазы путем сшивания полимеров, поликонденсация и полимеризация. Наконец, третья группа – это физические методы: напыление в псевдооживленном слое, экструзия и конденсация паров. Такая классификация, в основу которой положена природа процессов, протекающих при инкапсуляции, достаточно условна. На практике часто используется сочетание различных методов. Кроме перечисленных методов, следует еще упомянуть метод аэрозольного микрокапсулирования, который может быть отнесен и ко второй, и к третьей группе, поскольку в его основе могут лежать как химические процессы, так и явления физической коалесценции частиц. При определении наиболее пригодного метода для каждого конкретного случая исходят из заданных свойств конечного продукта, стоимости процесса и многих других факторов. Однако главным образом выбор метода определяется свойствами капсулируемого вещества [54].

Классификация, опубликованная в 1999 г. В зарубежной литературе [55] представлена в таблице 3.

Таблица 3

Классификация методов инкапсуляции, предложенная в 1999 г. [55]

Процесс	Материал оболочки	Среда
Межфазная полимеризация	Водорастворимые и нерастворимые мономеры	Вода/ органические растворители
Сложная коацервация	Водорастворимые полиэлектролиты	Вода
Простая коацервация	Гидрофобные полимеры	Органические растворители
Термическая деструкция	Белки	Органические соединения
Высаливание	Водорастворимые полимеры	Вода
Выпаривание летучего растворителя	Гидрофильные или гидрофобные полимеры	Органические растворители или вода
Термоплавка	Гидрофильные или гидрофобные полимеры	Вода/ органические соединения
Удаление растворителя	Гидрофильные или гидрофобные полимеры	Органические растворители
Спрей-сушка	Гидрофильные или гидрофобные полимеры	Воздух, азот
Фазовое разделение	Гидрофильные или гидрофобные полимеры	Вода / органические соединения

Иногда бывает трудно классифицировать методы инкапсуляции потому, что некоторые из них могут быть сочетанием двух

или нескольких и использовать различные механизмы одновременно, кроме того, на протяжении лет менялись их названия.

Данные, опубликованные в статье [56] представлены в таблице 4.

Таблица 4

Методы микрокапсулирования по классификации, предложенной в 2011 г.  
[56]

Метод	Применение
Химические методы	
Суспензионная полимеризация	Текстиль
Эмульсионная полимеризация	Фармацевтика
Дисперсионный метод	Биологические науки
Межфазный метод	Защита растений, катализ, фармацевтика
Физические методы	
Суспензионное сшивание	Фармацевтика
Экстракция	
Сушка распылением	
Коацервация	
Конденсация паров	Фармацевтика, пищевая промышленность
Кристаллизация из расплавов	Пищевая промышленность
Осаждение	Пищевая промышленность
Ко-экструзия	Биологические науки
Покрытие в кипящем слое	Биомедицина
Вымораживание	Биологические науки
Дисковое вращение	Фармацевтика
Метод пропитки	Фармацевтика

Характеристики методов получения микро- и нанокапсул

Химические методы используют мономеры и форполимеры как исходный материал для инкапсуляции. К ним относятся: суспензионная полимеризация, эмульсионная полимеризация, дисперсный и межфазный методы [56,57].

Суть метода эмульсионной полимеризации заключается в том, что мономер добавляется к водному раствору, содержащему инкапсулируемое вещество и подходящий эмульгатор. В результате происходит процесс полимеризации и молекулы осаждаются в водном растворе до формирования первичных ядер. С продолжением полимеризации эти ядра постепенно увеличиваются и таким образом формируются микрокапсулы [56].

Межфазная полимеризация. В этом методе оболочки капсул формируются на поверхности капель или многофункциональных мономеров. Обычно используются многофункциональные изоцианаты или хлориды кислот. Многофункциональный мономер диспергируется в водную фазу, которая содержит растворенный в жидкости материал ядра капсул и диспергатор. К этой смеси для быстрой полимеризации добавляется многофункциональный амин. Это приводит к формированию оболочки в результате реакции изоцианата с амином [56].

Дисперсный и межфазный методы. Формирование оболочки капсул происходит в результате полимеризации мономеров, добавленных к инкапсулируемому веществу. В этом процессе нет реактивных агентов, добавляемых к основному материалу. Полимеризация происходит исключительно в непрерывной фазе, на которой образуется дисперсное ядро. Первоначально формируется низкомолекулярный форполимер, вес которого с течением времени увеличивается. На поверхности откладывается основной материал, и далее из него формируются капсулы [56,58].

Физические методы. В качестве исходных материалов используются полимеры. В формировании капсул химические реакции не принимают участия. К этой группе методов относятся: суспензионное сшивание, испарение растворителя, простая и сложная коацервации, разделение фаз, сушка распылением, напыление в псевдооживленном слое, кристаллизация из расплава, осаждение, ко-экструзия, наложение слоев [56,59].

Суспензионное сшивание. Этим методом получают микрокапсулы полисахаридов. Он включает в себя диспергирование водного раствора полимера в раствор материала ядра капсул в несмешивающихся органических растворителях. Это универсальный метод, который применим для микрокапсулирования жидких и твердых веществ [56].

Экстракция. Это наиболее часто используемый метод получения микрокапсул. Он включает в себя эмульгирование раствора полимера, содержащего лекарственный препарат растворенный в несмешивающихся растворителях в присутствии поверхностно-активных веществ с образованием дисперсии препарата. Далее растворитель удаляют из дисперсии при нагревании, вакууме или выпаривают при комнатной температуре. Микросферы промывают и сушат. Данный метод широко используется в фармацевтической промышленности [59,60].

Кристаллизация из расплавов. Полимер сначала расплавляется, а затем смешивается с инкапсулируемым препаратом. К этой смеси добавляют несмешивающиеся растворители и нагревают ее до 50°C при непрерывном перемешивании. Затем эмульсия охлаждается.

Коацервация. Определяется как пленкообразование. В настоящее время существует два вида коацервации: простая и сложная. Механизм формирования микрокапсул для обоих процессов идентичен, за исключением того, каким образом осуществляется разделение. В простой коацервации десольватирующий агент добавляется для разделения фаз, в то время как сложная включает в себя коацервацию комплексообразования между двумя

полимерами. Сложная коацервация состоит из трех этапов: создание трех несмешивающихся фаз, осаждение оболочки, отверждение оболочки [61,62].

Сушка распылением. Этот метод применим для инкапсуляции широкого спектра материалов. Инкапсулируемое вещество растворяют или суспендируют в определенном растворителе, содержащем полимерное соединений. Раствор или суспензию распыляют в сушильной камере, а микрочастицы в виде распыленных капель сушат газом-носителем. Результаты сильно зависят от свойств полимера и материала ядра капсул. Средний размер частиц, получаемых данным способом составляет 10 мкм [56].

Покрытие в кипящем слое. Есть три часто используемых разновидности данного метода: сверху, снизу, тангенциальное распыление. Частицы, получаемые первым видом способа имеют низкую насыпную плотность и, как правило, неправильную форму. Метод вращающегося диска (тангенциальное распыление) сочетает в себе высокую плотность смешивания и эффективное высушивание и дает продукты с высокой насыпной плотностью. Частицы менее рыхлые и имеют сферическую форму. В методе покрытия в кипящем слое снизу твердые частицы ядра микрокапсул под высоким давлением вместе с полимером наносится на частицы из нижней части камеры параллельно воздушному потоку. В результате образуются микрокапсулы в виде тонкой пленки [56,59,60].

Метод пропитки. Полимерные матрицы пропитываются термолабильным органическим соединением за счет диффузии из насыщенного  $\text{ScCO}_2$  при комнатной температуре. Данный метод осуществляется без органических растворителей и применяется для инкапсуляции лекарственных препаратов [56].

Контролируемые покрытие. Это новый метод инкапсуляции. Он состоит в том, что полимер растворяют в  $\text{ScCO}_2$ , а затем условия (время и давление) постепенно корректируются при осаждении частиц. Этот процесс применяется для получения микрокапсул бычьего сывороточного альбумина.

Инкапсуляция при быстром расширении. В данном способе получения микрокапсул применяются флюиды. Инкапсуляция осуществляется за счет того, что при небольшом изменении температуры происходит большое изменение плотности этих соединений. Эта технология также применяется для подготовки наночастиц [56,63,64].

К наиболее часто применяемым разновидностям метода инкапсуляции при быстром расширении относятся:

- метод быстрого расширения раствора;
- метод газового нерастворения;
- метод получения частиц в насыщенном растворе газа [56].

Метод быстрого расширения раствора. В этом способе флюид, содержащий активное вещество и материал оболочки поддерживается под высоким давлением, а затем давление резко опускают до атмосферного. Внезапное падение давления является причиной десольватации материала оболочки, которая затем формируется вокруг активного ингредиента (ядра) и образует микрокапсулы. Недостатком этого процесса является то, что активное вещество и материал оболочки должны быть растворимых во флюидах.

Метод газового нерастворения. Здесь флюид добавляют к полимеру и инкапсулируемому соединению и далее полученную смесь держат под высоким давлением. Это приводит к осаждению растворенных веществ. Таким образом, они должны быть растворимы в жидком растворителе и нерастворимы во флюиде. Этот процесс непригоден для инкапсуляции водорастворимых соединений.

Метод получения частиц в насыщенном растворе газа. Этот способ осуществляется путем смешивания ядра и оболочки с флюидом под высоким давлением. Когда смесь нагревается выше температуры стеклования, полимер разжижается. После снижения давления образуются микрокапсулы. В этом методе ядра и оболочки должны быть нерастворимы в флюиде [56,62].

Для того чтобы подобрать приемлемый метод инкапсуляции важно знать физико-химические свойства препарата и полимерного материала. Требования для выбора метода инкапсуляция:

1. Доходность и эффективность инкапсуляции должна быть высокой.
2. Стабильность и биологическая активность препарата должны увеличиваться в результате инкапсуляции.
3. Микросферы не должны подвергаться агрегации.
4. Этот процесс должен быть полезен для промышленности. Метод выбирается в основном исходя из природы используемого полимера [56-60]

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Получение нанокапсул сульфата меди в альгинате натрия (соотношение ядро:оболочка 1:1)

1 г сульфата меди медленно добавляли в суспензию 1 г альгината натрия в гексане, содержащая 0,01 г E472c (сложный эфир глицерина с одной-двумя молекулами пищевых жирных кислот и одной-двумя молекулами лимонной кислоты, причем лимонная кислота, как трехосновная, может быть этерифицирована другими глицеридами и как оксокислота – другими жирными кислотами. Свободные кислотные группы могут быть нейтрализованы натрием) в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 2 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата меди в альгинате натрия (соотношение ядро:оболочка 1:3)

1 г сульфата меди медленно добавляли в суспензию 3 г альгината натрия в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 4 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата меди в каррагинане (соотношение ядро:оболочка 1:1)

1 г сульфата меди медленно добавляли в суспензию 1 г каррагинана в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 2 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата меди в каррагинане (соотношение ядро:оболочка 1:3)

1 г сульфата меди медленно добавляли в суспензию 3 г каррагинана в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 4 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата меди в геллановой камеди (соотношение ядро:оболочка 1:1)

1 г сульфата меди медленно добавляли в суспензию 1 г геллановой камеди в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 2 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата меди в геллановой камеди (соотношение ядро:оболочка 1:3)

1 г сульфата меди медленно добавляли в суспензию 3 г геллановой камеди в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 4 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата никеля в альгинате натрия (соотношение ядро:оболочка 1:1)

1 г сульфата никеля медленно добавляли в суспензию 1 г альгината натрия в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 2 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата никеля в альгинате натрия (соотношение  
ядро:оболочка 1:3)

1 г сульфата никеля медленно добавляли в суспензию 3 г альгината натрия в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 4 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата никеля в каррагинене (соотношение  
ядро:оболочка 1:1)

1 г сульфата никеля медленно добавляли в суспензию 1 г каррагинана в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 2 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата никеля в каррагинане (соотношение  
ядро:оболочка 1:3)

1 г сульфата никеля медленно добавляли в суспензию 3 г каррагинана в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 4 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата никеля в геллановой камеди  
(соотношение ядро:оболочка 1:1)

1 г сульфата никеля медленно добавляли в суспензию 1 г геллановой камеди в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 2 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата никеля в геллановой камеди  
(соотношение ядро:оболочка 1:3)

1 г сульфата никеля медленно добавляли в суспензию 3 г геллановой камеди в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 4 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата кобальта в альгинате натрия  
(соотношение ядро:оболочка 1:1)

1 г сульфата кобальта медленно добавляли в суспензию 1 г альгината натрия в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл

хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 2 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата кобальта в альгинате натрия  
(соотношение ядро:оболочка 1:3)

1 г сульфата кобальта медленно добавляли в суспензию 3 г альгината натрия в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 4 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата кобальта в каррагинане (соотношение  
ядро:оболочка 1:1)

1 г сульфата кобальта медленно добавляли в суспензию 1 г каррагинана в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 2 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата кобальта в каррагинане (соотношение  
ядро:оболочка 1:3)

1 г сульфата кобальта медленно добавляли в суспензию 3 г каррагинана в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-

активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 4 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата кобальта в геллановой камеди  
(соотношение ядро:оболочка 1:1)

1 г сульфата кобальта медленно добавляли в суспензию 1 г геллановой камеди в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 2 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

Получение нанокапсул сульфата кобальта в геллановой камеди  
(соотношение ядро:оболочка 1:3)

1 г сульфата кобальта медленно добавляли в суспензию 3 г геллановой камеди в гексане, содержащую 0,01 г препарата E472c в качестве поверхностно-активного вещества при перемешивании 1000 об/мин. Далее приливали 6 мл хладона-112. Полученную суспензию отфильтровывали и высушивали при комнатной температуре.

Получено 4 г порошка нанокапсул. Выход составил 100%.

### 2.2.2. Методы исследования антимикозной активности

Микробиологические свойства наноструктурированных солей металлов определяли методом посева суспензии спор (0,1 ОП) *Aspergillus niger* на

твердую питательную среду Чапека с внесением бумажных дисков (метод диффузии в среду).

1. Подготовка посуды и инструментов. Заворачивали необходимое количество чашек Петри и пробирок в бумагу и стерелизовали при 170° в течении 1,5 – 2 часа. Нарезали необходимое количество бумажных дисков и стерелизовали в сухожаровом шкафу.
2. Подготовка питательной среды и автоклавированной воды. Приготовление среды Чапека произведено по инструкциям готовой питательной среды
3. Экспериментально определена оптимальная концентрация суспензии спор *Aspergillus niger* по оптической плотности (0,1 ОП) с последующим разведением 1:10.
4. Приготовление 1%-х растворов нативных и наноструктурированных солей тяжелых металлов. Для приготовления растворов нативных солей в 4 мл автоклавированной дистиллированной воды растворяли 0,04 г соли тяжелого металла. Для приготовления раствора наноструктурированных солей (в соотношении ядро:оболочка 1:1) в 4 мл автоклавированной дистиллированной воды растворяли 0,08 г вещества, а для приготовления растворов солей в соотношении ядро:оболочка 1:3, в 4 мл автоклавированной дистиллированной воды растворяли 0,16 г вещества.
5. В чашки Петри стерильным шприцом в пламени спиртовки разливали 4,5 мл среды Чапека. После застывания, производили посев газоном 100 мкл суспензии спор в разведении 1:10 на поверхность питательной среды. Пропитывали бумажные диски 30 мкл 1%-го раствора солей металлов и размещали в засеянных чашках Петри. После помещали в термостат на 25°С и инкубировали в течении 72 часов.

б. По окончании инкубации, измеряли зоны ингибирования (для диско-диффузного метода). Полученные данные статистически обрабатывали и формулировали выводы.

Статистический анализ проводили разностным методом. Данный метод используется для статистического анализа разности опытных и контрольных повторностей, посеянных в одинаковых условиях, что позволяет повысить существенность различий между вариантами и точность опыта. Например, при сравнении контрольной ( $x_1$ ) и опытной ( $x_2$ ) выборки с  $n_i$  повторностью, вычисляют разность ( $d$ ) между ними по повторениям:  $n_{iX1.1} - n_{iX2.1} = d_1$ ;  $n_{iX1.2} - n_{iX2.2} = d_2$  и т.д. Затем, определяют средние арифметические разности:  $(d_1 + d_2 + \dots + d_{ni}) / n_i = \bar{d}$ .

Отклонения  $d - \bar{d}$  рассчитывают между каждой разностью и средним значением. Эти отклонения возводят в квадрат и суммируют, а их суммы  $\sum (d - \bar{d})^2$  используют для вычисления ошибок разностей  $S_d$  по формуле:

$$S_d^{1-2} = \sqrt{\frac{\sum (d - \bar{d})^2}{n(n - 1)}}$$

Вычисляют критерий достоверности Стьюдента фактический:

$$t_{1-2} = \frac{(\bar{X}_2 - \bar{X}_1)}{S_d}$$

Фактический критерий сравнивают с теоретическим, который находится в соответствующей таблице по числу степеней свободы, вычисляемого по формуле  $v = (n_{i1} - 1) + (n_{i2} - 1)$ , и делают выводы, пользуясь таким правилом: если фактический критерий Стьюдента равен теоретическому значению или больше него, то разность между вариантами существенна [71].

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исходные вещества проходили входной контроль с использованием физико-химических и химических методов анализа. Очистка растворителей, и приготовление растворов производились непосредственно перед началом проведения эксперимента.

Супрамолекулярная химия опирается на более или менее жестко организованные, синтетические молекулярные рецепторы, позволяющие осуществлять молекулярное распознавание, катализ и процессы переноса, а также создавать молекулярные устройства. Использование макро- и макрополициклических структур было продиктовано необходимостью достижения лучшего контроля за геометрией и жесткостью молекулярных рецепторов. К такой предорганизации изначально стремились при дизайне краун-эфиров, криптандов, сферандов и т. д. За пределами предорганизации, основанной на ковалентном связывании, лежит область создания систем, способных к самоорганизации, т. е. к спонтанной генерации при заданных условиях хорошо определенной (функциональной) супрамолекулярной архитектуры из отдельных составных компонентов.

Термины "самосборка" и "самоорганизация" могут употребляться применительно к различным понятиям [10] и часто использовались довольно свободно как синонимы других нечетко определенных терминов и выражений, имеющих неоднозначные значения [11].

Использование компонентов на основе биологических структур может позволить получать разнообразные, имеющие теоретическое и прикладное значение биоматериалы [12], такие как биомезогены, т. е. жидкие кристаллы на основе биологических молекул, биоминералы [13], наноархитектуры на основе каркасов нуклеиновых кислот [14] или белков [15].

Для создания новых материалов можно в полной мере использовать те возможности, которые предоставляет контроль, осуществляемый информационно-зависимыми супрамолекулярными процессами, за синтезом крупномасштабных архитектур, подобно своеобразной молекулярной и супрамолекулярной тектонике, ведущий к появлению нанотехнологии и наноматериалов органической и неорганической природы. Важно отметить, что технологии, основанные на процессах самоорганизации, должны позволить исключить стадии микропроизводства за счет спонтанной генерации не просто соединений, но желаемых суперструктур и устройств из соответствующим образом подобранных и запрограммированных функциональных строительных блоков. Объединив супрамолекулярную химию с материаловедением, можно было бы создать богатую палитру структур и свойств.

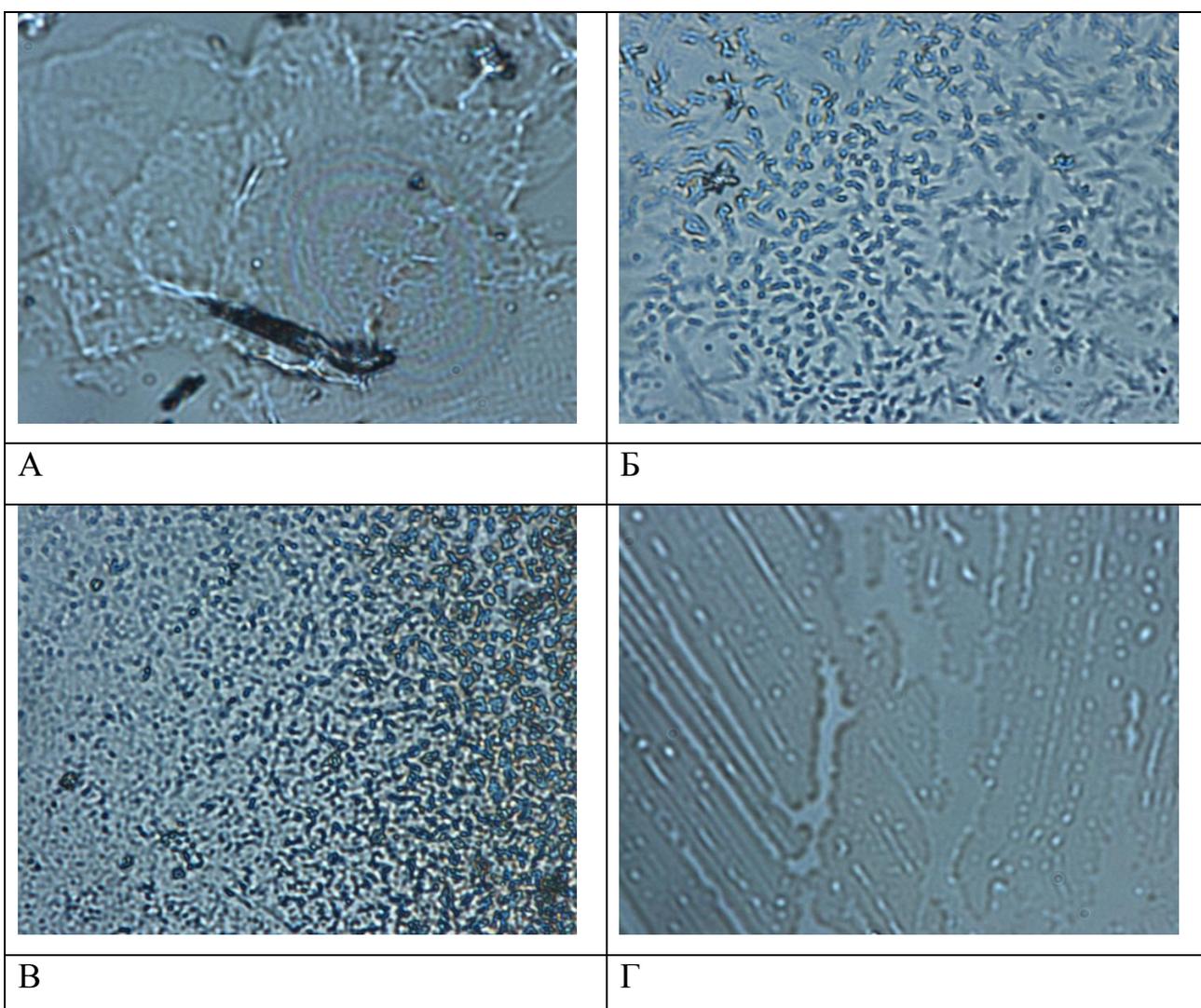
Исследование самоорганизации микрокапсул проводили следующим образом. Порошок наноструктурированного препарата растворяли в воде, каплю наносили на покровное стекло и выпаривали. Высушенная поверхность сканировали методом конфокальной микроскопии на микроспектрометре OmegaScore, производства AIST-NT (г. Зеленоград), совмещенном с конфокальным микроскопом. Результаты приведены на рис. 1. Поскольку в водном растворе микрокапсул при их достаточно низкой концентрации обнаружены фрактальные композиции, они обладают самоорганизацией. Образование микрокапсул происходит спонтанно за счет нековалентных взаимодействий и это говорит о том, что для них характерна самосборка.

На рисунке 1 представлены самоподобные объекты, инвариантные относительно локальных дилатаций, т.е. фракталы. Известно, что фракталы являются естественным заполнением множеств между известными евклидовыми объектами с целочисленными размерностями. Наличие фрактала указывает на возможность получения совершенно другого полимера при практически неизменном составе макромолекулы. Этот «новый полимер» будет

иметь другие молекулярные характеристики и отличающуюся надсегментальную структуру.

Фрактальная композиция так же указывает на процесс самосборки, что указывает на образование нанокапсул.

Поскольку в водном растворе нанокапсул при их достаточно низкой концентрации обнаружены фрактальные композиции, они обладают самоорганизацией. Образование нанокапсул происходит спонтанно за счет нековалентных взаимодействий и это говорит о том, что для них характерна самосборка (см. рис.2).



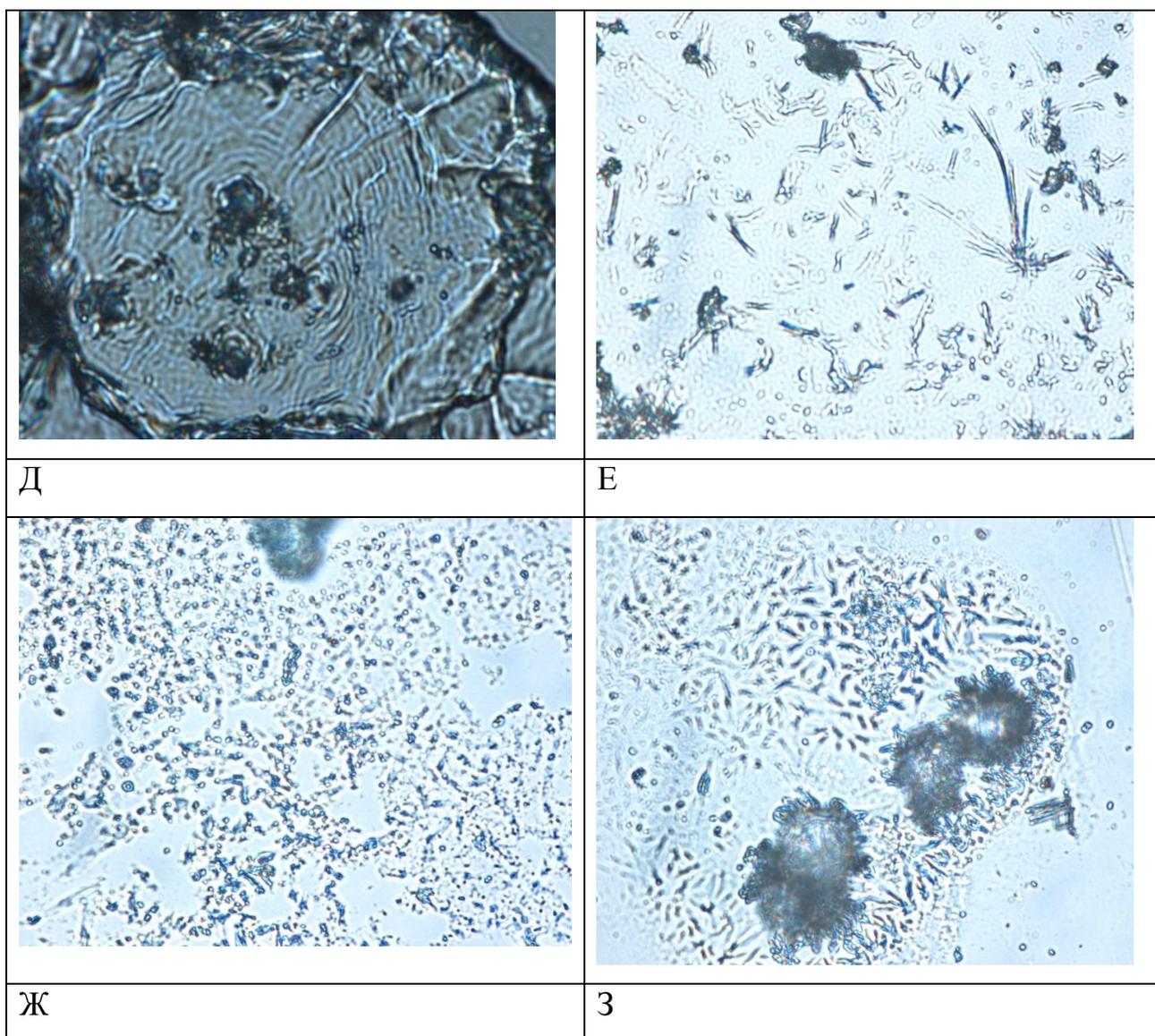


Рис. 2. Конфокальное изображение нанокapsул солей металлов: а) сульфат кобальта в альгинате натрия при соотношении ядро:оболочка 1:1, в концентрации 0,125% при увеличении 920 раз; б) сульфат кобальта в альгинате натрия при соотношении ядро:оболочка 1:3, в концентрации 0,25% при увеличении 920 раз; в) сульфат никеля в альгинате натрия при соотношении ядро:оболочка 1:1, в концентрации 0,125% при увеличении 730 раз; г) сульфат никеля в альгинате натрия при соотношении ядро:оболочка 1:3, в концентрации 0,125% при увеличении 730 раз; д) сульфат никеля в каррагинане при соотношении ядро:оболочка 1:3, в концентрации 0,125% при увеличении 730 раз; е) сульфат меди в каррагинане при соотношении ядро:оболочка 1:3, в концентрации 0,125%, при увеличении 730 раз; ж) сульфат меди в альгинате натрия при соотношении ядро:оболочка 1:1, в концентрации 0,25%, при увеличении 730 раз; з) сульфат меди в альгинате натрия при соотношении ядро:оболочка 1:3, в концентрации 0,25%, при увеличении 730 раз;

Измерения размера нанокapsул проводили на мультипараметрическом анализаторе наночастиц Nanosight LM0 производства Nanosight Ltd (Великобритания) в конфигурации HS-BF (высококчувствительная видеокамера Andor Luca, полупроводниковый лазер с длиной волны 405 нм и мощностью 45 мВт). Прибор основан на методе Анализа траекторий наночастиц (Nanoparticle Tracking Analysis, NTA), описанном в ASTM E2834.

Оптимальным разведением для разведения было выбрано 1: 100. Для измерения были выбраны параметры прибора: Camera Level = 16, Detection Threshold = 10 (multi), Min Track Length:Auto, Min Expected Size: Auto. длительность единичного измерения 215 сек, использование шприцевого насоса.

Данные по размерам нанокapsул солей металлов приведены на рис.3 и таблицах

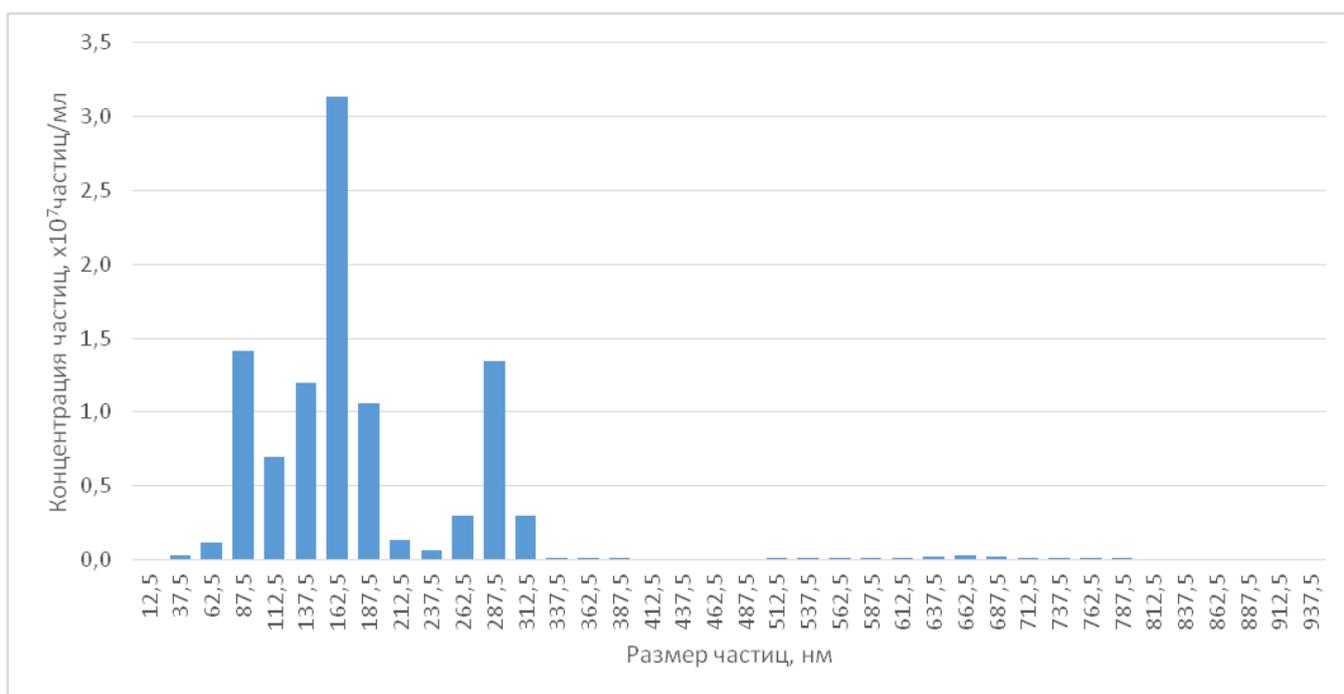


Рис. 3. Распределение частиц по размерам в образце нанокapsул сульфата кобальта в желлановой камеди (соотношение ядро:оболочка 1:1)

Таблица 5.

Статистические характеристики распределений

Параметр	Значение
Средний размер, нм	176,7
D10, нм	64,9
D50, нм	136,9
D90, нм	263,8
Коэффициент полидисперсности, (D90-D10)/D50	1,45
Общая концентрация частиц, $\times 10^8$ частиц/мл	0,99

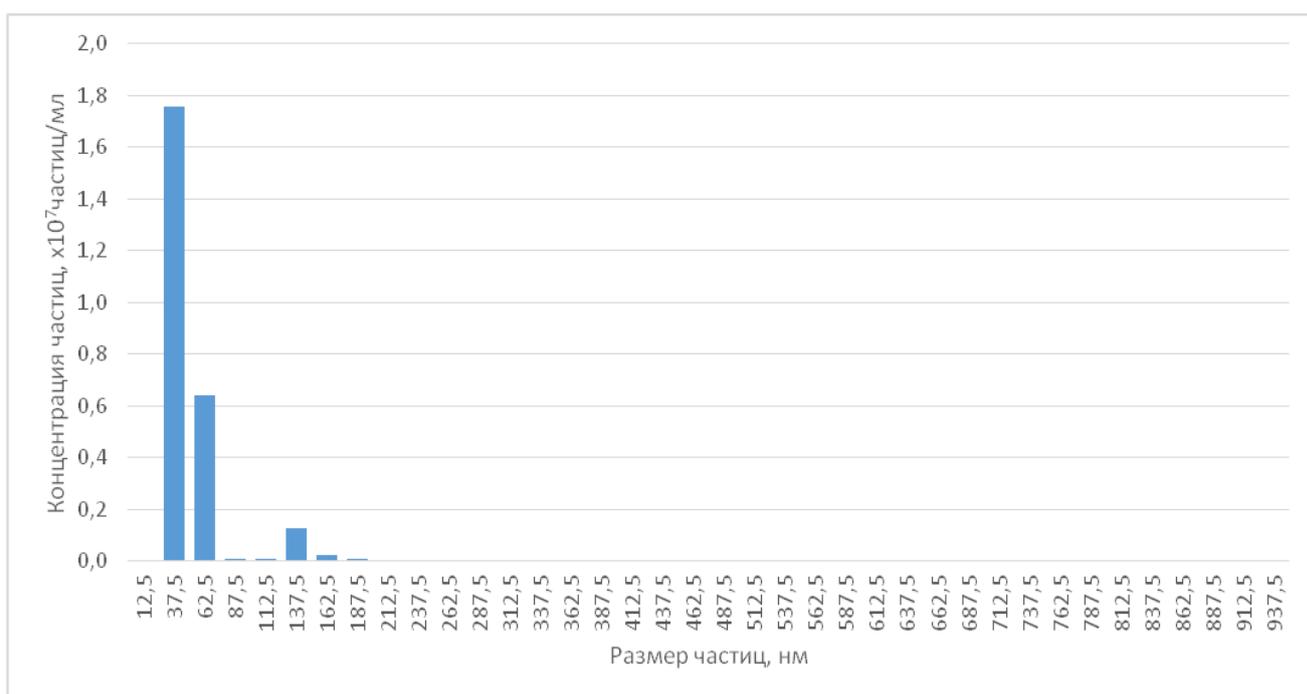


Рис. 4. Распределение частиц по размерам в образце нанокapsул сульфата кобальта в желлановой камеди (соотношение ядро:оболочка 1:3)

Таблица 6.

### Статистические характеристики распределений

Параметр	Значение
Средний размер, нм	49,9
D10, нм	25
D50, нм	25
D90, нм	46,1
Коэффициент полидисперсности, (D90-D10)/D50	0,84

Общая концентрация частиц, $\times 10^8$ частиц/мл	0,26
--	------

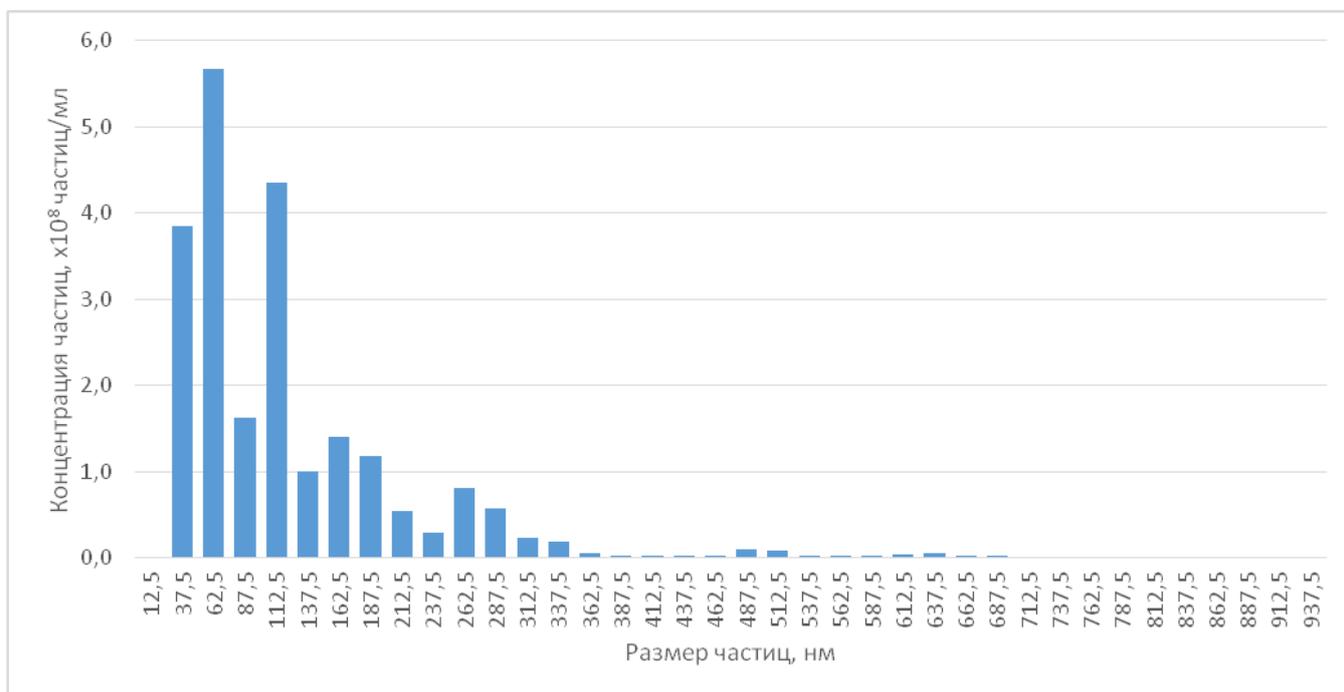


Рис. 5. Распределение частиц по размерам в образце нанокapsул сульфата меди в желатиновой камеди (соотношение ядро:оболочка 1:3)

Таблица 7.

### Статистические характеристики распределений

Параметр	Значение
Средний размер, нм	117,2
D10, нм	25
D50, нм	73,2
D90, нм	218,2
Коэффициент полидисперсности, (D90-D10)/D50	2,64
Общая концентрация частиц, $\times 10^8$ частиц/мл	22

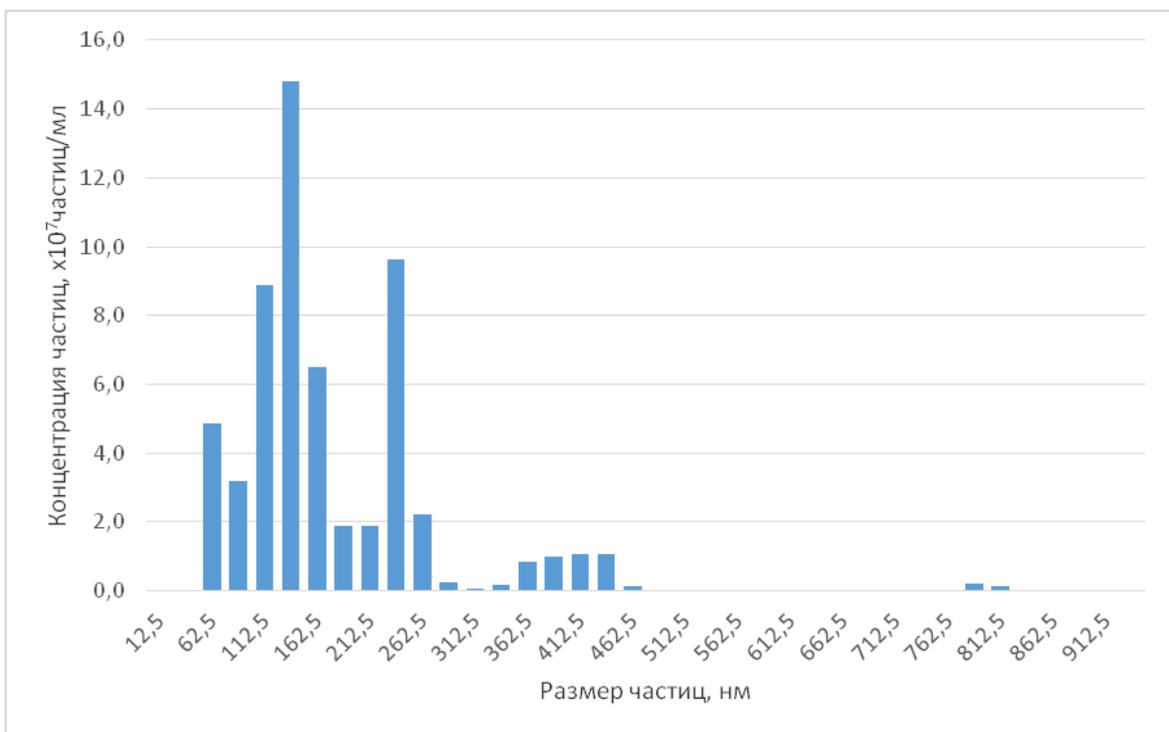


Рис. 6. Распределение частиц по размерам в образце нанокapsул сульфата никеля в желатиновой камеди (соотношение ядро:оболочка 1:1)

Таблица 8.

### Статистические характеристики распределений

Параметр	Значение
Средний размер, нм	177,6
D10, нм	58
D50, нм	121,1
D90, нм	239,7
Коэффициент полидисперсности, $(D90-D10)/D50$	1,50
Общая концентрация частиц, $\times 10^{12}$ частиц/мл	5,88

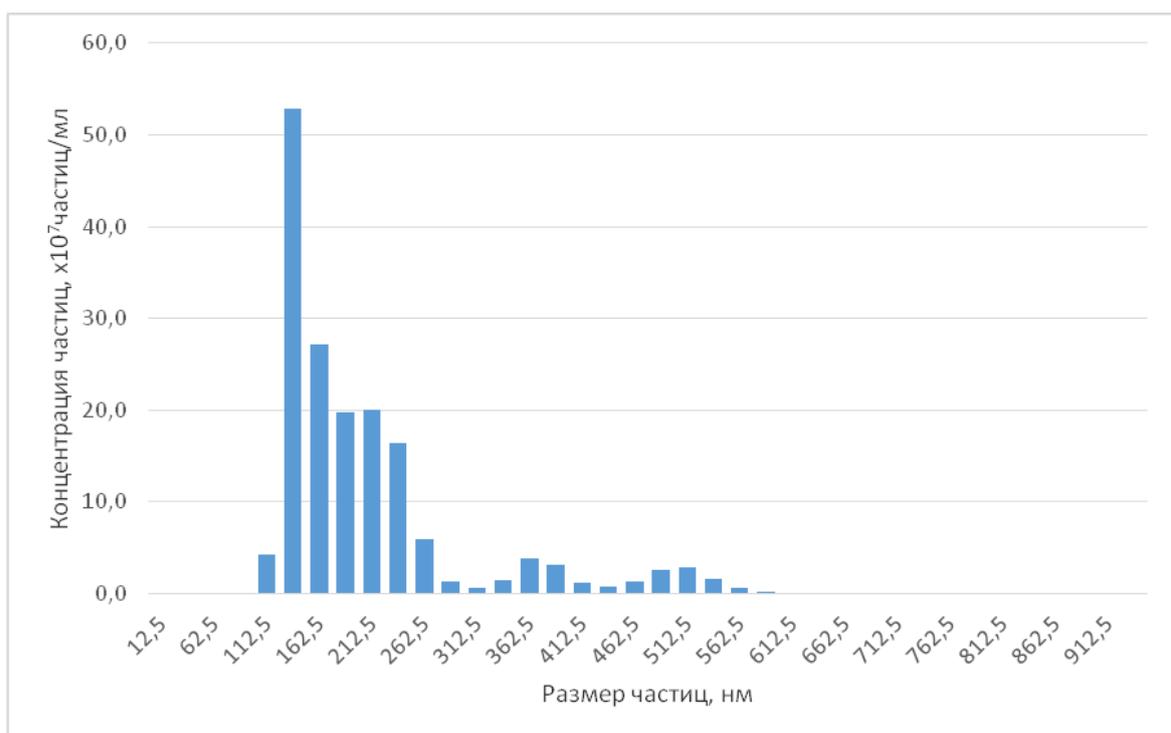


Рис. 7. Распределение частиц по размерам в образце нанокapsул сульфата никеля в желатиновой камеди (соотношение ядро:оболочка 1:3)

Таблица 9.

### Статистические характеристики распределений

Параметр	Значение
Средний размер, нм	208
D10, нм	105,9
D50, нм	150
D90, нм	335,7
Коэффициент полидисперсности, $(D90-D10)/D50$	1,53
Общая концентрация частиц, $\times 10^{12}$ частиц/мл	16,80

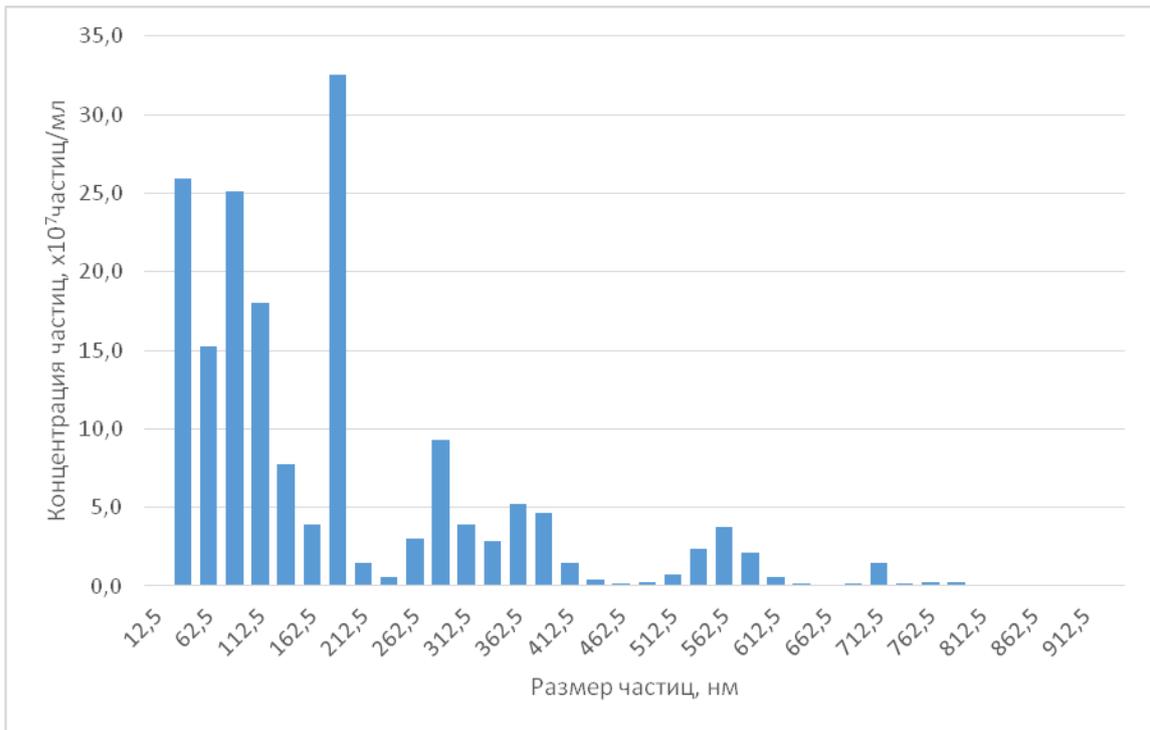


Рис. 8. Распределение частиц по размерам в образце нанокapsул сульфата меди в альгинате натрия (соотношение ядро:оболочка 1:1)

Таблица 10.

### Статистические характеристики распределений

Параметр	Значение
Средний размер, нм	185,3
D10, нм	25
D50, нм	108,9
D90, нм	360,6
Коэффициент полидисперсности, $(D90-D10)/D50$	3,08
Общая концентрация частиц, $\times 10^{12}$ частиц/мл	17,40

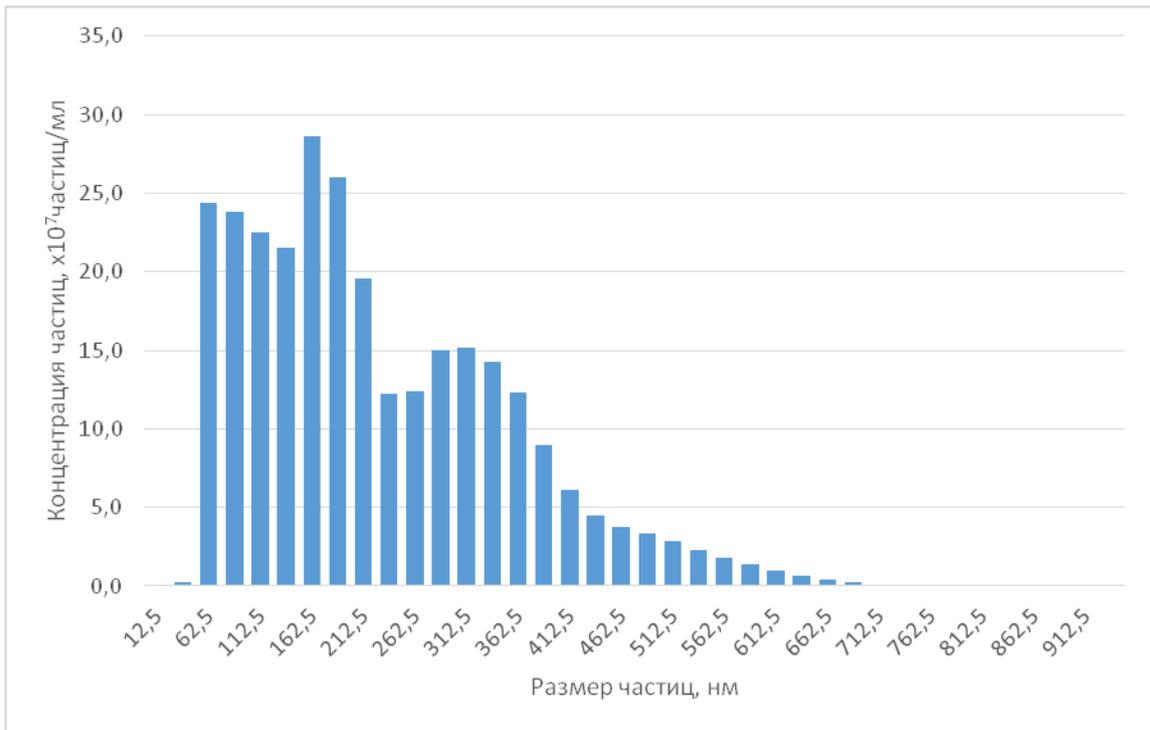


Рис. 9. Распределение частиц по размерам в образце нанокapsул сульфата меди в альгинате натрия (соотношение ядро:оболочка 1:3)

Таблица 11.

### Статистические характеристики распределений

Параметр	Значение
Средний размер, нм	227,1
D10, нм	54,2
D50, нм	170,9
D90, нм	375,1
Коэффициент полидисперсности, $(D90-D10)/D50$	1,88
Общая концентрация частиц, $\times 10^{12}$ частиц/мл	28,60

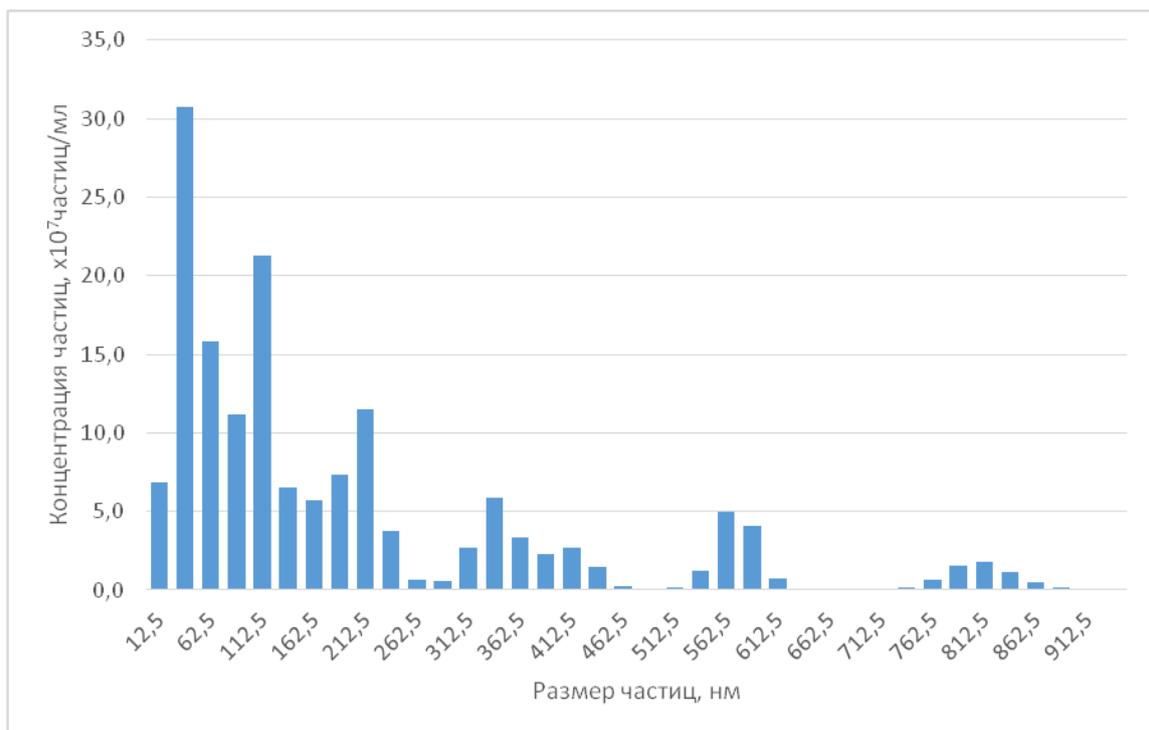


Рис. 10. Распределение частиц по размерам в образце нанокapsул сульфата меди в каррагинане (соотношение ядро:оболочка 1:1)

Таблица 12.

### Статистические характеристики распределений

Параметр	Значение
Средний размер, нм	211,3
D10, нм	25
D50, нм	93,6
D90, нм	538,1
Коэффициент полидисперсности, $(D90-D10)/D50$	5,48
Общая концентрация частиц, $\times 10^{12}$ частиц/мл	16,10

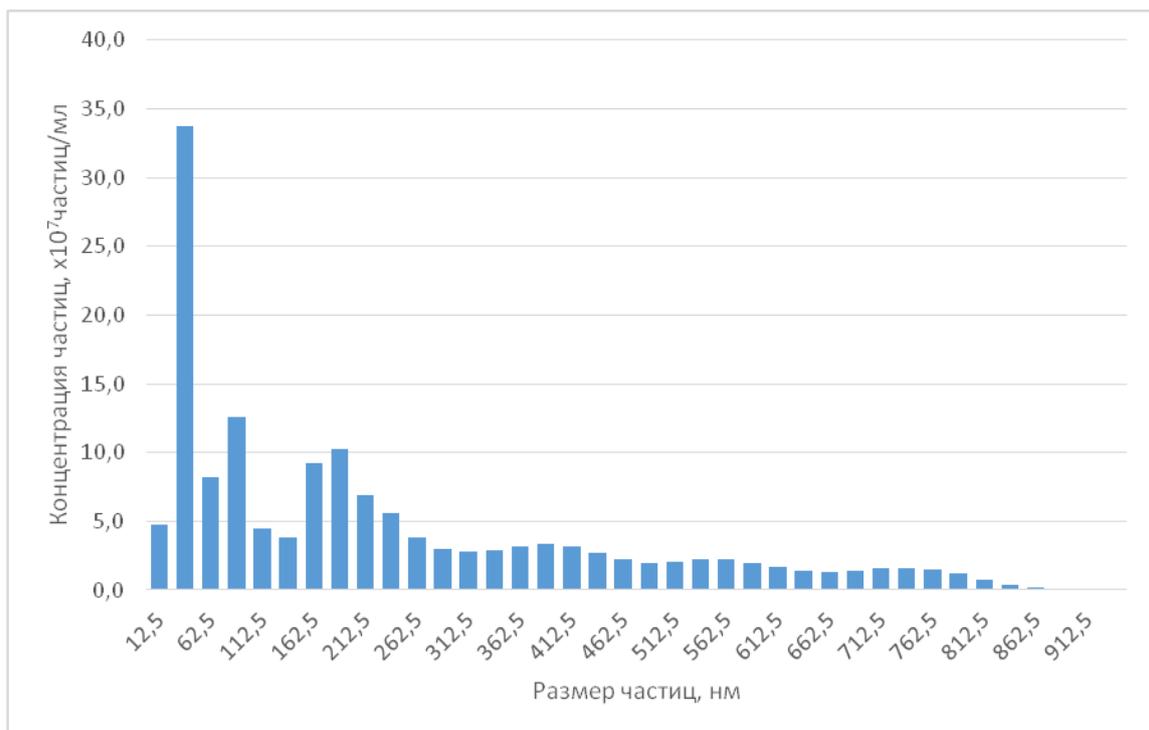


Рис. 11. Распределение частиц по размерам в образце нанокапсул сульфата меди в каррагинане (соотношение ядро:оболочка 1:3)

Таблица 13.

### Статистические характеристики распределений

Параметр	Значение
Средний размер, нм	252,7
D10, нм	25
D50, нм	149,5
D90, нм	590,9
Коэффициент полидисперсности, $(D90-D10)/D50$	3,79
Общая концентрация частиц, $\times 10^{12}$ частиц/мл	15,30

Результаты опыта по исследованию влияния наноструктурированных солей тяжелых металлов на плесневые грибы *Aspergillus niger*.

Анализ данных антимикозной активности нативных и нанокапсулированных растворов показало, что для нативного сульфата никеля и сульфата никеля в каррагинане (в соотношении ядро:оболочка 1:1) различие статистически не значимое [приложение 10], так как, оболочка снижает активность действующего вещества на 1.37%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-1.1} = 0.183$ , что ниже табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ).

Для сульфата никеля в каррагинане с соотношением 1:3, сравнение с нативным статистически значимо при ошибке не более 5%,  $p \leq 0.05$  [приложение 10]. Сравнение сульфата никеля-каррагинан 1:1 и сульфата никеля-каррагинан 1:3 показывает, что различие статистически значимо, при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 10], так как данное соотношение оболочки и вещества снижает активность сульфата никеля относительно нативного 68.03% при критерии достоверности Стьюдента  $t_{1-2.2} = 15.094$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ), и относительно каррагинан 1:1 на 67.58% при критерии достоверности Стьюдента  $t_{1.1-1.2} = 9,926$  (табличные значения:  $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 13].

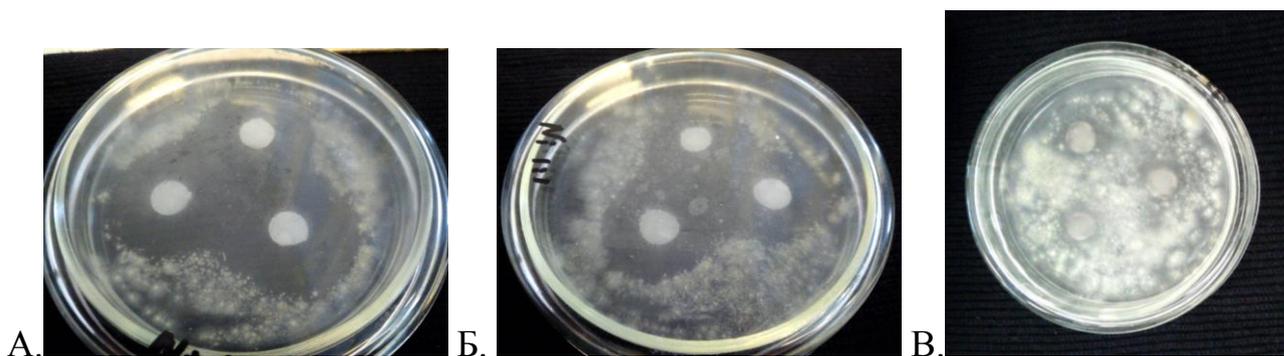


Рис.12. А. зоны ингибирования нативного сульфата никеля при диско-диффузном методе; Б. зоны ингибирования сульфата никеля в каррагинане (в соотношении ядро:оболочка 1:1); В. зоны ингибирования сульфата никеля в каррагинане (в соотношении ядро:оболочка 1:3)

Сравнение действия нативного сульфата никеля с сульфатом никеля-альгинат натрия 1:1 показало статистически значимое различие, при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 10], так как оболочка снижает активность вещества относительно нативного на 31.64%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-2,1} = 5.9$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ).

Для нативного сульфата никеля и сульфата никеля-альгинат натрия 1:3 различие статистически значимое, при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 10]. Различия между соотношениями оболочек и вещества 1:1 и 1:3 статистически значимо, при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 10], так как оболочка в соотношении 1:3 снижает активность действующего вещества относительно нативного на 56.77%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-2,2} = 15.094$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ), и относительно сульфат никеля-альгинат натрия 1:3 на 35.21%, при критерии достоверности Стьюдента  $t_{2,1-2,2} = 4.976$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 14].

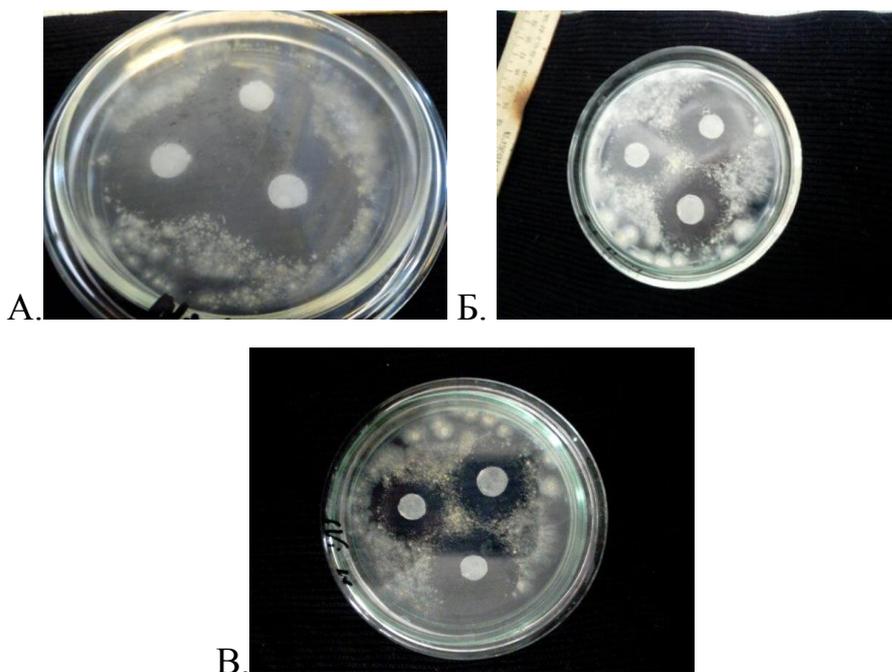


Рис.13. А. зоны ингибирования нативного сульфата никеля при диско-диффузном методе; Б. зоны ингибирования сульфата никеля в альгинате натрия (в соотношении ядро:оболочка 1:1); В. зоны ингибирования сульфата никеля в альгинате натрия (в соотношении ядро:оболочка 1:3)

Сравнение нативного сульфата никеля и сульфата никеля-геллановая камедь 1:1 показало, что различие статистически значимо, при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 10], так как оболочка в соотношении 1:1 снижает активность действующего вещества на 20.98 % относительно нативного, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-3,1}=3.809$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ).

Сравнение нативного сульфата никеля и сульфата никеля-геллановая камедь 1:3 показало, что различие статистически значимо, при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 10]. Сравнение оболочки в соотношениях 1:1 и 1:3 между собой показало, что различие статистически не значимо [приложение 10], так как оболочка в соотношении снижает активность сульфата никеля на 27. 21% относительно нативного, и статистически незначимо относительно соотношения 1:3 [приложение 15].

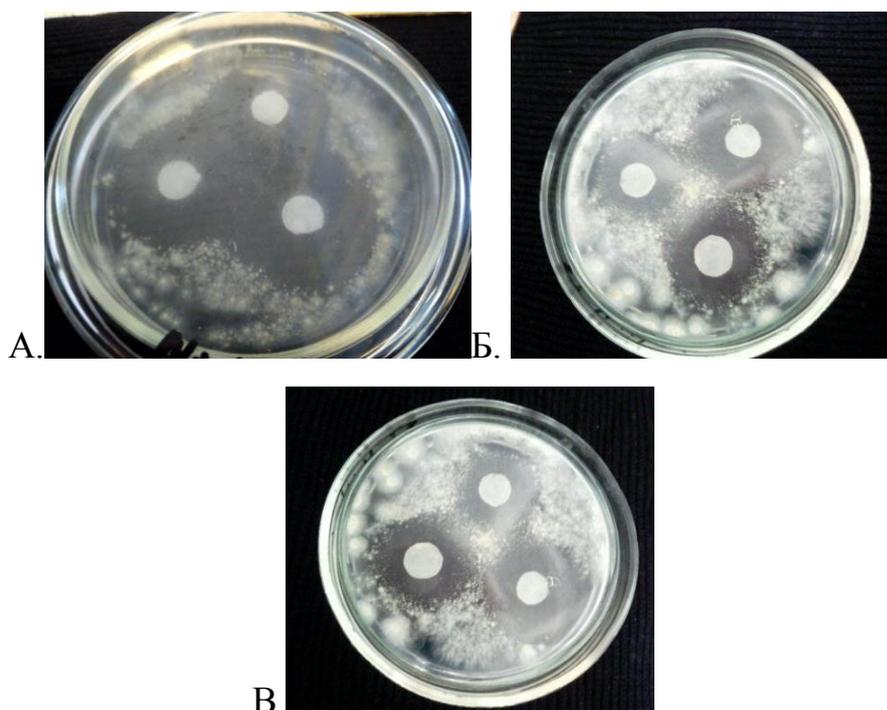


Рис.14. А. зоны ингибирования нативного сульфата никеля при диско-диффузном методе; Б. зоны ингибирования сульфата никеля в желатиновой камеди (в соотношении ядро:оболочка 1:1); В. зоны ингибирования сульфата никеля в желатиновой камеди (в соотношении ядро:оболочка 1:3)

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата никеля-желатиновая камедь и сульфата никеля-каррагинан в соотношении 1:1 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 1%,  $P \leq 0.01$  [приложение 10], так как эффективность оболочки каррагинан в соотношении 1:1 превышает желатиновую камедь 1:1 на 19.98%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{3,1-1,1}=2,478$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 16].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата никеля-желатиновая камедь и сульфата никеля-альгинат натрия в соотношении 1:1 показало, что различие статистически не значимо [приложение 10], так как эффективность оболочки - желатиновая камедь в соотношении 1:1 превышает альгинат натрия 1:1 на 13.37%, а критерий достоверности Стьюдента

составляет  $t_{3.1-2.1}=1,732$ , что выше табличного Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата никеля-каррагинан и сульфата никеля-альгинат натрия в соотношении 1:1 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 10], так как эффективность оболочки каррагинан в соотношении 1:1 превышает альгинат натрия 1:1 на 30.68%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1.1-2.1}=3,891$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 16].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата никеля-геллановая камедь и сульфата никеля-альгинат натрия в соотношении 1:3 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 10], так как эффективность оболочки геллановой камеди в соотношении 1:3 превышает альгинат натрия 1:3 на 40.66%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{3.2-2.2}=7,229$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 17].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата никеля-геллановая камедь и сульфата никеля-каррагинан в соотношении 1:3 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 10], так как эффективность оболочки геллановой камеди в соотношении 1:3 превышает каррагинан 1:3 на 56.08%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{3.2-1.2}=10,83$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 17].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата никеля-альгинат натрия и сульфата никеля-каррагинан в соотношении 1:3 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 10], так как эффективность оболочки альгинат натрия в соотношении 1:3 превышает каррагинан 1:3 на 25.99%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{2.2-1.2}=4,625$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 17].

Статистическое сравнение антимикозной активности нанокапсулированных веществ с нативными показало, что для нативного сульфата меди и сульфата меди-каррагинан в соотношении 1:1 различие статистически не значимое [приложение 11], так как оболочка снижает эффективность действующего вещества на 4.1% относительно нативного сульфата меди, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-1.1} = 0.778$ , что ниже табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 18].

Для сульфата меди в каррагинане с соотношением 1:3, сравнение с нативным статистически значимо при ошибке не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 11]. Сравнение сульфата меди-каррагинан 1:1 и сульфата меди-каррагинан 1:3 показывает, что различие статистически значимо, при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 11], так как данное соотношение оболочки и вещества снижает активность сульфата меди относительно нативного 45.85% и каррагинан 1:1 на 44.27%, а критерии достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-1.2} = 18.64$  и  $t_{1.1-1.2} = 9,926$ , соответственно, что выше табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 18].

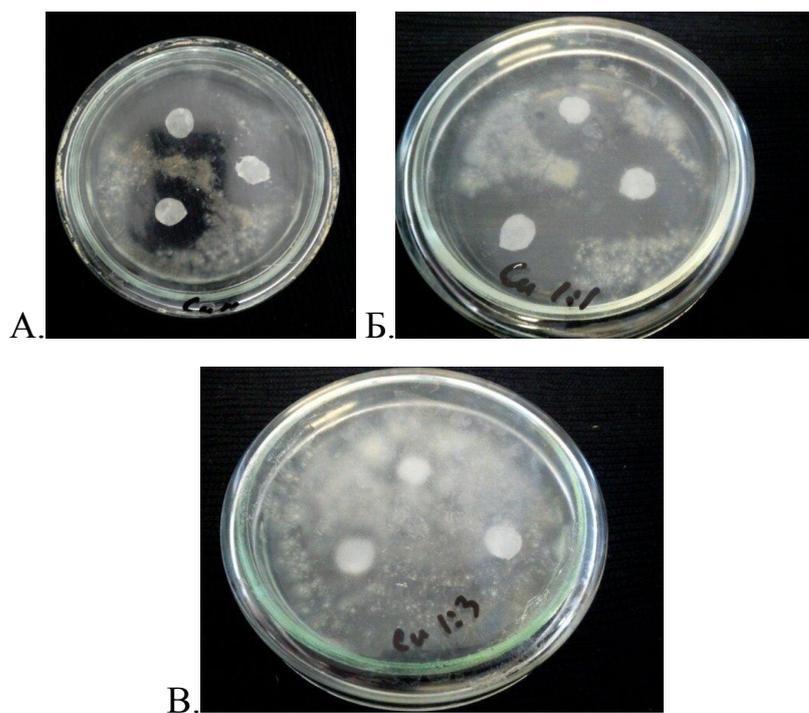


Рис.15. А. зоны ингибирования нативного сульфата меди при диско-диффузном методе; Б. зоны ингибирования сульфата меди в каррагинане (в соотношении ядро:оболочка 1:1); В. зоны ингибирования сульфата меди в каррагинане (в соотношении ядро:оболочка 1:3)

Сравнение действия нативного сульфата меди с сульфатом меди-альгинат натрия 1:1 показало статистически значимое различие, при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 11], так как оболочка снижает активность вещества относительно нативного на 24.53%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-2,1} = 4,805$ , что ниже табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 19]

Для сульфата меди в альгинате натрия с соотношением 1:3, сравнение с нативным статистически значимо при ошибке не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 11]. Сравнение сульфата меди-альгинат натрия 1:1 и сульфата меди-альгинат натрия 1:3 показывает, что различие статистически не значимо [приложение 11], так как данное соотношение оболочки и вещества снижает активность сульфата меди относительно нативного 33.02% и альгината натрия 1:1 на 11.25%, а критерии достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-2,2} = 15.094$ , что

выше табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) и  $t_{2.1-2.2} = 4.976$ , что ниже табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 19].

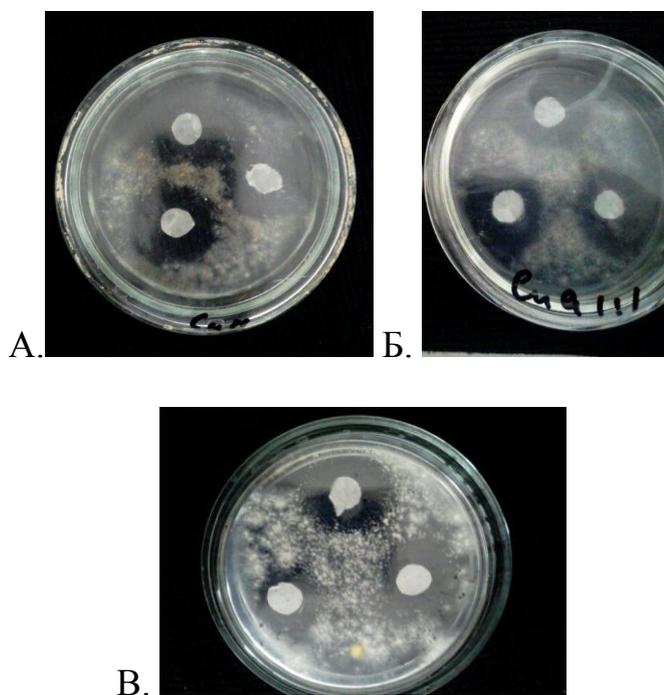


Рис.16. А. зоны ингибирования нативного сульфата меди при диско-диффузном методе; Б. зоны ингибирования сульфата меди в альгинате натрия (в соотношении ядро:оболочка 1:1); В. зоны ингибирования сульфата меди в альгинате натрия (в соотношении ядро:оболочка 1:3)

Сравнение действия нативного сульфата меди с сульфатом меди-геллановая камедь 1:1 показало статистически не значимое различие [приложение 11], так как оболочка снижает активность вещества относительно нативного на 4.72%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-2.1} = 4.805$ , что ниже табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 20].

Для сульфата меди в геллановой камеди с соотношением 1:3, сравнение с нативным статистически не значимо [приложение 11]. Сравнение сульфата меди-геллановая камедь 1:1 и сульфата меди-геллановая камедь 1:3 показывает,

что различие статистически не значимо [приложение 11], так как данное соотношение оболочки и вещества снижает активность сульфата меди относительно нативного на 8.81% и геллановой камеди 1:1 на 4.9% а критерии достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-3.2}=1,997$  и  $t_{3.1-3.2}= 0,925$ , соответственно, что ниже табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 20].

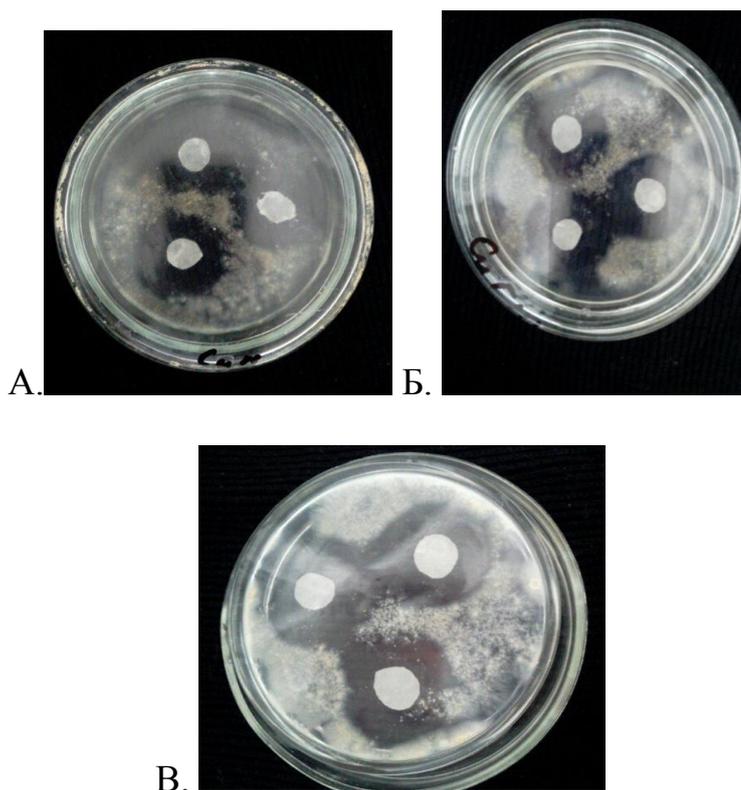


Рис.17. А. зоны ингибирования нативного сульфата меди при диско-диффузном методе; Б. зоны ингибирования сульфата меди в геллановой камеди (в соотношении ядро:оболочка 1:1); В. зоны ингибирования сульфата меди в геллановой камеди (в соотношении ядро:оболочка 1:3)

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата меди-геллановая камедь и сульфата меди-каррагинан в соотношении 1:1 показало, что различие статистически не значимо [приложение 11], так как эффективность действующего вещества в оболочке геллановая камедь в

соотношении 1:1 ниже, чем каррагинан 1:1 на 0.6%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{3.1-1.1}=0,119$ , что ниже табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 21].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата меди-геллан и сульфата меди-альгинат натрия в соотношении 1:1 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 11], так как эффективность действующего вещества в оболочке геллановой камеди в соотношении 1:1 превышает альгинат натрия 1:1 на 20.8%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{3.1-2.1}=3,873$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 21].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата меди-каррагинан и сульфата меди-альгинат натрия в соотношении 1:1 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 11], так как эффективность действующего вещества в оболочке каррагинан в соотношении 1:1 превышает альгинат натрия 1:1 на 21.31%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1.1-2.1}=3,891$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 21].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата меди-геллановая камедь и сульфата меди-каррагинан в соотношении 1:3 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 11], так как эффективность оболочки геллановой камеди в соотношении 1:3 превышает каррагинан 1:3 на 41.39%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{3.2-1.2}=15,47$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 22].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата меди-геллановая камедь и сульфата меди-альгинат натрия в соотношении 1:3 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 11], так как эффективность оболочки геллановой камеди в соотношении 1:3 превышает альгинат натрия 1:3 на 26.55%, а критерий

достоверности Стьюдента составляет  $t_{3,2-2,2}=6,703$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 22].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата меди-альгинат натрия и сульфата меди-каррагинан в соотношении 1:3 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 11], так как эффективность оболочки альгинат в соотношении 1:3 превышает каррагинан 1:3 на 20.14%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{2,2-1,2}=4,286$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 22].

Сравнение зоны ингибирования между сульфатом кобальта нативного и сульфата кобальта-каррагинан в соотношении 1:1 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 12], так как оболочка снижает активность действующего вещества на 38.03%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-1,1} = 2,759$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 23].

Сравнение зоны ингибирования между сульфатом кобальта нативного и сульфата кобальта-каррагинан в соотношении 1:3 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 12]. Сравнение сульфата кобальта-каррагинан 1:1 и сульфата кобальта-каррагинан 1:3 показывает, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 1% ( $P \leq 0.01$ ) [приложение 12], так как данное соотношение оболочки и вещества снижает активность сульфата кобальта относительно нативного на 55,64% и снижает эффективность действующего вещества относительно каррагинан 1:1 на 29.57 %, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-1,2} = 5,105$  и  $t_{1,1-1,2} = 2,084$ , соответственно, что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 23].

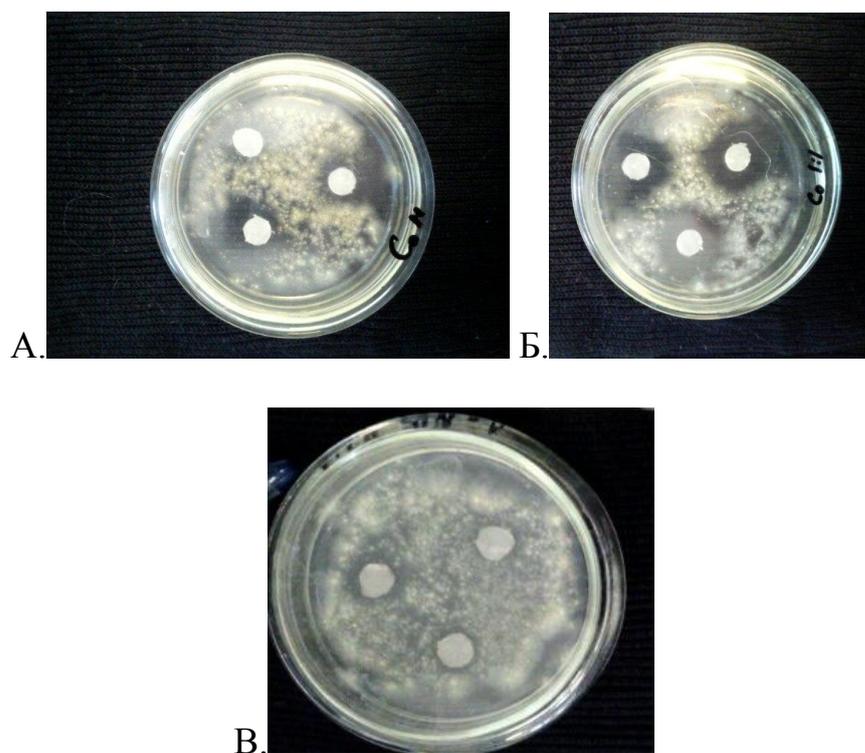


Рис.18. А. зоны ингибирования нативного сульфата кобальта при диско-диффузном методе; Б. зоны ингибирования сульфата кобальта в каррагинане (в соотношении ядро:оболочка 1:1); В. зоны ингибирования сульфата кобальта в каррагинане (в соотношении ядро:оболочка 1:3)

Сравнение зоны ингибирования между сульфатом кобальта нативного и сульфата кобальта-альгинат натрия в соотношении 1:1 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 12], так как оболочка снижает активность действующего вещества на 45.08%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-2,1} = 4,318$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 24].

Сравнение зоны ингибирования между сульфатом кобальта нативного и сульфата кобальта-альгинат натрия в соотношении 1:3 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 12]. Сравнение сульфата кобальта-альгинат натрия 1:1 и сульфата кобальта-альгинат натрия 1:3 показывает, что различие статистически не значимо [приложение 12], так как данное соотношение оболочки и вещества снижает

активность сульфата кобальта относительно нативного на 43,68% и повышает эффективность действующего вещества относительно альгинат 1:1 на 2.5 %, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-2,2}=3,975$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ), и  $t_{2,1-2,2} = 0,277$  что ниже табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ), соответственно [приложение 24].

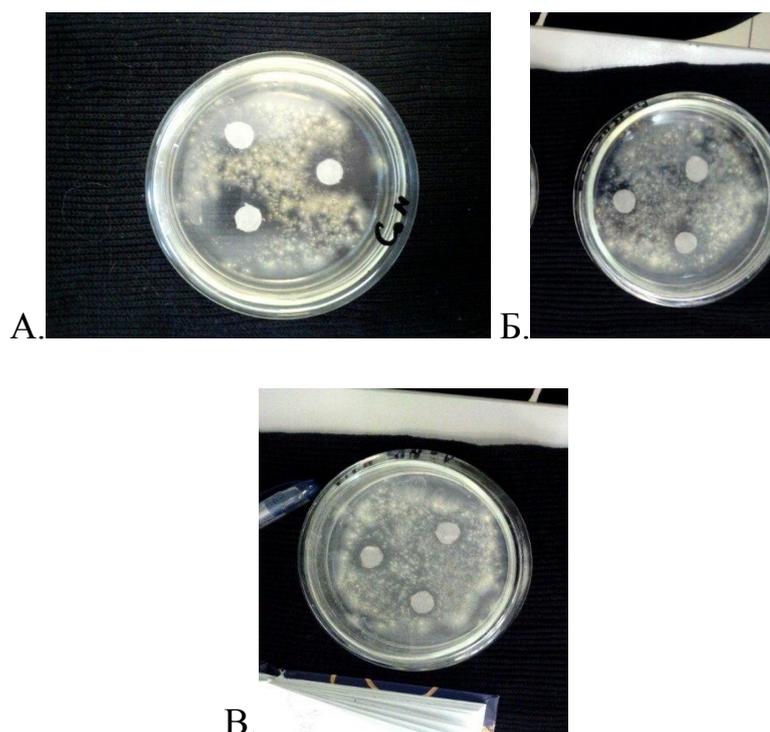


Рис.19. А. зоны ингибирования нативного сульфата кобальта при диско-диффузном методе; Б. зоны ингибирования сульфата кобальта в альгинате натрия (в соотношении ядро:оболочка 1:1); В. зоны ингибирования сульфата кобальта в альгинате натрия (в соотношении ядро:оболочка 1:3)

Сравнение зоны ингибирования между сульфатом кобальта нативного и сульфата кобальта-геллановая камедь в соотношении 1:1 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 12], так как оболочка повышает активность действующего вещества на 70.4%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-3,1}=4,712$ ,

что выше табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 25].

Сравнение зоны ингибирования между сульфатом кобальта нативного и сульфата кобальта-геллановая камедь в соотношении 1:3 показало, что различие статистически не значимо [приложение 12]. Сравнение сульфата кобальта-геллановая камедь 1:1 и сульфата кобальта-геллановая камедь 1:3 показывает, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 12], так как данное соотношение оболочки и вещества снижает активность сульфата кобальта относительно нативного на 4,94% и снижает эффективность действующего вещества относительно геллановой камеди 1:1 на 44,22 %, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1-3,2} = 0,447$ , что ниже табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ), и  $t_{3,1-3,2} = 7,071$ , что ниже табличного значения ( $p \leq 0.01 = 2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ), соответственно [приложение 25].

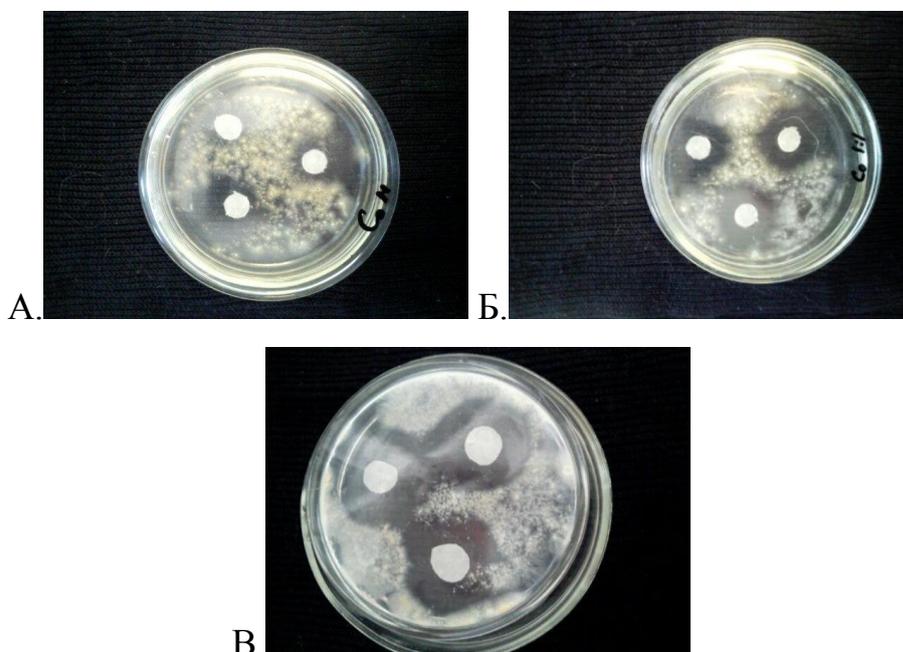


Рис.20. А. зоны ингибирования нативного сульфата кобальта при диско-диффузном методе; Б. зоны ингибирования сульфата кобальта в геллановая камедь (в соотношении

ядро:оболочка 1:1); В. зоны ингибирования сульфата кобальта в желлановая камедь (в соотношении ядро:оболочка 1:3)

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата кобальта-желлановая камедь и сульфата кобальта-каррагинан в соотношении 1:1 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 12], так как эффективность действующего вещества в оболочке желлановой камеди в соотношении 1:1 превышает каррагинан 1:1 на 63,64%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{3,1-1,1}=8,045$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 26].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата кобальта-желлановая камедь и сульфата кобальта-альгинат натрия в соотношении 1:1 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 12], так как эффективность действующего вещества в оболочке желлановой камеди в соотношении 1:1 превышает альгинат натрия 1:1 на 67,77%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{3,1-2,1}=10,188$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 26].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата кобальта-альгинат натрия и сульфата кобальта-каррагинан в соотношении 1:1 показало, что различие статистически не значимо [приложение 12], так как эффективность действующего вещества в оболочке каррагинан в соотношении 1:1 превышает альгинат 1:1 на 11,38%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{1,1-2,1}=0,722$ , что ниже табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 26].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата кобальта-желлановая камедь и сульфата кобальта-каррагинан в соотношении 1:3 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 12], так как эффективность действующего вещества в оболочке желлановой камеди в соотношении 1:3 превышает каррагинан 1:3 на

53,34%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{3,2-1,2}=16,971$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 27].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата кобальта-геллановая камедь и сульфата кобальта-альгинат натрия в соотношении 1:3 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 12], так как эффективность действующего вещества в оболочке геллановой камеди в соотношении 1:3 превышает альгинат натрия 1:3 на 40,75%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{3,2-2,2}=11,761$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 27].

Сравнение зоны ингибирования между оболочками сульфата кобальта-альгинат натрия и сульфата кобальта-каррагинан в соотношении 1:3 показало, что различие статистически значимо при уровне ошибки не более 5%,  $P \leq 0.05$  [приложение 12], так как эффективность действующего вещества в оболочке альгината натрия в соотношении 1:3 превышает каррагинан 1:3 на 21,25%, а критерий достоверности Стьюдента составляет  $t_{2,2-1,2}=4,303$ , что выше табличного значения ( $p \leq 0.01=2.687$ ;  $p \leq 0.05 = 2.013$ ) [приложение 27].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Таким образом, были изучены литературные данные о плесневых грибах, определяющие их роль для человека, включающая в себя как положительные, так и отрицательные значения. Многие представители грибов вызывают порчу строительных материалов, продуктов, вызывают болезни человека и сельскохозяйственных животных, что подтверждает необходимость исследований и поиска средств эффективного устранения патогена.

2. В ходе ознакомления с литературными источниками, выявлены вещества, используемые при борьбе с грибами, носящие фунгицидный и фунгистатичный характер. При некоторых заболеваниях человека применяют антимикотики, которые поражают возбудителя, не причиняя большого ущерба организму пациента. Среди фунгицидов выделяют группу медьсодержащих, что свидетельствует о влиянии меди на плесневые грибы как ксенобиотика.

3. Исследование литературы, описывающей тяжелые металлы и их свойства, позволило выявить их негативное воздействие на живые организмы, в целом. Тем не менее, тяжелые металлы являются необходимыми компонентами для нормальной жизнедеятельности организмов, в малых концентрациях.

Исходя из того, что медьсодержащие фунгициды являются действенным средством, а также, учитывая данные исследований влияния никеля, меди и кобальта, проводимые исследователями, такими как В.А. Калюжин и О.В. Калюжина, в работе «Влияние концентрированных растворов солей тяжелых металлов на физиологические и кинетические показатели микроорганизмов», и пр., становится ясным, что соли тяжелых металлов проявляют ксенобиотический характер относительно плесневых грибов, в частности, представителей рода *Aspergillus*.

4. Был осуществлен синтез наноструктурированных солей тяжелых металлов. Данные по размерам наночастиц солей металлов приведены на рис.3 – 11. - и таблицах. При конфокальном микроскопировании были обнаружены

фрактальные композиции (рис.2), что свидетельствует о наличии супрамолекулярных свойств данных структур.

5. В результате опыта было установлено, что соли тяжелых металлов подавляют рост плесневого гриба *Aspergillus niger* в разной степени. Так, при диско-диффузном методе, 1%-ые растворы нативных солей тяжелых металлов формируют зоны ингибирования ( $\bar{X}$ , мм), равные 12, 25 ( $\text{NiSO}_4$ ); 13, 25 ( $\text{CuSO}_4$ ); 5, 917 ( $\text{CoSO}_4$ ). Определена антимикозная активность наноструктурированных солей тяжелых металлов относительно нативных, а именно, различие статистически не значимо для сульфата никеля в каррагинане с соотношением ядро:оболочка 1:1 [приложение 10] и сульфата меди в каррагинане с соотношением ядро:оболочка 1:1 [приложение 11]. Повышение активности отмечено в случае сульфата кобальта в геллане с соотношением ядро:оболочка 1:1 в сравнении с нативным сульфатом кобальта [приложение 12]. Для остальных вариантов оболочек и соотношений характерно снижение активности действующего вещества наноструктурированных солей тяжёлых металлов.

7. Можно предположить связь антимикозной активности наноструктурированных солей тяжёлых металлов с размерами нанокapsул, так как, соли тяжёлых металлов в нанокapsule с соотношением 1:1 имеют меньшее среднее значение размера и большее значение активности, чем у солей тяжёлых металлов в оболочках с соотношением 1:3.

6. Были поданы заявки на изобретения наноструктурированных солей тяжелых металлов.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Бэккер З. Э. Физиология и биохимия грибов. – М.: Изд-во Моск. уи-та. 1988. – 230 с. – ISBN 5 - 211 - 00132 – X.
2. Аспергиллы / Билай В. И., Коваль Э. З. – Киев: Наук. думка. 1988. – 204 с. – ISBN 5 – 12 – 000853-4.
3. Мюллер Э., Лёффлер В. Микология: Пер. с нем. – М.: Мир, 1995. – 343 с., ил. ISBN 5-03-002999-0
4. Елинов Н. П. Основы биотехнологии. Для студентов институтов; аспирантов и практических работников. Издательская фирма «Наука» СПб 1995 г.с., 600 стр. 160 ил. ISBN 5-02-026027-4
5. Дудка И. А., Вассер С. П., Элланская И. А., и др. Методы экспериментальной микологии. Справочник.
6. Леонтьев Д. В., Сербин А. Г., Росхин В. В., Буряк В. В., Панасенко А. И., Юрченко И. А., Кочергина А. В., Парченко В. В., Каплаушенко А. Г. Медицинская микология с основами микотоксикологии. Учебник для высших учебных заведений/под ред. Д. В. Леонтьева, А. Г. Сербина. – Харьков: 2010. – 142 с.
7. Л. В. Гарибова, С. Н. Лекомцева. Основы микологии: Морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов. Учебное пособие. Москва: Товарищество научных изданий КМК. 2005. 220 с.
8. Переведенцева Л. Г. Микология: грибы и грибоподобные организмы: Учебник. 2-е изд., испр. и доп. – СПб.: Издательство «Лань», 2012. – 272 с.: ил. – (Учебники для вузов. Специальная литература). ISBN 978-5-8114-1292-1
9. Васильевский Н. И., Каракулин Б. П. Паразитные несовершенные грибы. I. Гифомицеты. — М.—Л., 1937. — 517 с.

10. Васильевский Н. И., Каракулин Б. П. Паразитные несовершенные грибы. Ч. II. Меланкониальные. — М.—Л., 1950. — 680 с.
11. Кутафьева Н. П. Морфология грибов: Учеб. Пособие. 2-е изд., испр. и доп. — Новосибирск: Сиб. Унив. Изд-во, 2003. — 215 с.
12. Квеситадзе Г.И. Грибные и бактериальные амилазы. — Тбилиси: Мецниереба, 1984. — 154с.
13. Билай В.И., Билай Т.И., Мусич Е.Г. Трансформация целлюлозы грибами. — Киев : Наук. думка, 1982. — 291 с.
14. Билай В.И. Биологически активные вещества микроскопических грибов, — Киев: Наук. думка, 1965. — 266 с.
15. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебное пособие для студентов медицинских вузов/Пол ред. А.С. Быкова — М. : Медицинское информационное агенство. 2003. — 236с.: ил.
16. В.А. Калюжин, О.В. Калюжина. Влияние концентрированных растворов солей тяжелых металлов на физиологические и кинетические показатели микроорганизмов. УДК 582.283.
17. И.И. Колосова. Влияние ацетата свинца, солей тяжелых металлов на репродуктивную функцию. УДК 611. 12-034:591. 9
18. Ш.К. Амерханова, Р.М. Шляпов, О.А. Голованова, А.С. Уали. Токсическое действие ионов тяжелых металлов на метаболизм кальция в составе комплексов с биолигандами. УДК 543:541.1
19. Добрынина Н.А. Бионеорганическая химия. М.:МГУ. 2007. 36с.
20. В.М. Катола. О некоторых биосинтетических функциях плесневых грибов, выделенных из техногенных отходов горнорудных предприятий. УДК 549.28:582.281.21:577.182.22
21. P Rajendram, J Muthukrishnan & P Gunasekaran. Microbes in heavy metal remediation.
22. Е.Л. Пехташева, А.Н. Неверов, Г.Е. Заиков, С.А. Шевцова, Н.Е. Темникова. Биоповреждения и защита древесины и бумаги. УДК 541.64

23. Н.В. Прохорова, Н.М. Матвеев. Тяжелые металлы в почвах и растениях в условиях техногенеза. Вестник СамГУ.1996. Специальный выпуск.
24. Н. А. Морозова, Н.В. Прохорова. Аккумуляция тяжелых металлов в почвах и растениях урбосреды. ББК Е 581.
25. D.H. Nies. Microbial heavy-metal resistance.
26. И.Н. Калиновский, В.А. Симоненкова. Динамика разложения медьсодержащих фунгицидов в плодах и листьях винограда.
27. В.М. Делягин, М.Б. Мельникова, Б.С. Першин, Г.И. Серик, Д.Г. Джандарова. Грибковое поражение глаз (диагностика, лечение). УДК 617.7+616.9:053.2
28. Е.Н. Иванов, И.М. Еремеев, М.Я. Тремассов. Использование микосубтила для профилактики микотоксикозов животных. УЛК 619:615.3+619:615.9
29. И.В. Тихоновская. Микозы волосистой части головы у детей: этиология, клинические проявления, диагностика, лечение. ВестникВГМУ, 2008.том 7. №4
30. Р.Р. Искужина. Новые фунгициды на основе боратов. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2011. Т 13. №5(3). УДК 632.952
31. Г.В. Комлацкий. Технология профилактики микотоксикозов в свиноводстве. УДК 636.4:619, ББК 46.5+48, К-63
32. В.В. Знаменская, Е.А. Лукина, А.А. Харченко, А.Л. Лукин, И.И. Черевков. Влияние фунгицидов на посевные качества семян подсолнечника. УДК 632.93:631.53.01
- 33.Т.В. Семынина. Защита подсолнечника от белой и серой гнилей. УДК 632.938
34. А.И. Нетрусов, И.Б. Котова. Основы микробиологии. – 3-е изд., испр. – М. : Издательский центр «Аадемия», 2009. – 352 с.

35. Б.П. Чураков, Д.Б. Чураков. Лесная фитопатология: Учебник./Под ред. проф. Б.П. Чуракова. 2-е изд., испр. и доп.- СПб.: Издательство «Лань», 2012. – 448 с.: ил. – (Учебники для вузов. Специальная литература).
36. Минкевич И.И., Дорофеева Т.Б., Ковязин В.Ф. Фитопатология. Болезни древесных и кустарниковых пород: Учебное пособие/Под общ. ред. И.И. Минкевича. – СПб.: Издательство «Лань», 2011. – 160 с. (+вклейка, 32 с.). – (Учебники для вузов. Специальная литература).
37. В. М. Семенов, Т. И. Дмитраченко, В. М. Козин, И. В. Жильцов, Д. В. Пискун, С. К. Зенькова, Д. М. Семенов, И. В. Кучко. Руководство по инфекционным болезням / Под ред. В. М. Семенова. — М.: МИА, 2008.- с.
38. Э. Г. Донецкая. Клиническая микробиология: Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики. – М. :ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 480 с.: ил. (Библиотека врача-специалиста)
39. Ю.Н. Водяницкий. Тяжелые и сверхтяжелые металлы и металлоиды в загрязненных почвах. – М.: ГНУ Почвенный институт им. В.В. Докучаева Россельхозакадемии, 2009.
40. Дабахов М.В., Дабахова Е.В., Титова В.И. Экотоксикология и проблемы нормирования/ Нижегородская гос. с.-х. академия. – Н. Новгород: Изд-тво ВВАГС, 2005. – 165 с.
41. Ф. Т. Бингам, М. Коста, Э. Эйхенбергер и др. Некоторые вопросы токсичности ионов металлов: Пер с англ./ Под ред. Х. Зигеля, А. Зигель. – М.: Мир, 1993. – 368 с., ил.
42. Г. А. Теплая. Тяжелые металлы как фактор загрязнения окружающей среды (обзор литературы). Астраханский вестник экологического образования №1 (23) 2013. С. 182-192.
43. Левина Э. Н. Общая токсикология металлов. - Л.: Медицина, 1972. – 184 с
44. Ершов Ю. А., Плетенева Т. В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. - М.: «Медицина», - 1989. - 271 с.

45. Калюкова Е. Н. Свойства металлов и их соединений: учебное пособие / Е. Н. Калюкова. – Ульяновск : УЛГТУ, 2009. – 156 с.
46. Heidi M. Mansour, MinJi Sohn, Abeer Al-Ghananeem. Dosage Forms: Molecular Pharmaceutics and Controlled Release Drug Delivery Aspects // International Journal of Molecular Sciences. – 2010. – Vol.11. – P. 3298-3322.
47. Pat. 20110223314 US, Int. Class B05D 7/00 20060101 B05D007/00. Efficient Microencapsulation. Inventors: Zhang, Xiaoxiao, Garmire et al. Published: 15.09.2011.
48. Nalla Dilip Reddy B., Challa Vinil Reddy, Kishore A.B. Vasam Mallikarjun. Formulation and in vitro Evaluation of Erythromycin Microspheres // Journal of Global Pharma Technology. – 2010. – Vol.2. – P. 133-136.
49. Ram B. Gupta, Uday B. Kompella. Nanoparticle Technology for Drug Delivery. – NY: Taylor & Francis Group, 2006. – 427 p.
50. Mohsen Tafaghodi, Seyed Abolghasem Sajadi Tabassi, Mahmoud Reza Jaafari. Nasal Immunization by (PLGA) Nanospheres Encapsulated with Tetanus Toxoid and (CpG-ODN) // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. . – 2007. - Vol.6. – P. 151-158
51. Tafaghodi, M., Eskandari, M., Kharazizadeh et al. Immunization Against Leishmaniasis by PLGA Nanospheres Loaded with an Experimental Autoclaved Leishmania Major(ALM) and Quillaja Saponins // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2010. – Vol.27. – P. 639-650
52. Bojana Bon, Boštjan Šumiga. Microencapsulation Technology and its Applications in Building Construction Materials // Materials and Geoenvironment. – 2008. – vol.55. – No.3. – P. 329-344
53. Nicholas A. Peppas. Smart Drug Delivery and Bionanotechnology // XV International Symposium on Microencapsulation, Parma (Italy). - 2005. – P. 13-15
54. Бородина Т. Н. Получение и исследование биodeградируемых полиэлектролитных микрокапсул с контролируемым выходом белков,

- ДНК и других биоактивных соединений / Дис. доктора биол. н. - Москва, 2008. - 119 с.
55. Edith Mathiowitz. Encyclopedia of Controlled Drug Delivery. – NY: John Wiley & Sons, 1999. - P. 493-504
56. Pavan Kumar B., Sarath Chandiran I., Bhavya B. et al. Microparticulate Drug Delivery System: A Review // Indian Journal of Pharmaceutical Science & Research. – 2011. – Vol. 1. – P. 19-37
57. Amir Mortazavian, Seyed Hadi Razavi, Mohammad Reza Ehsani et al. Principles and Methods of Microencapsulation of Probiotic Microorganisms // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. . – 2007. Vol.5. – P. 1-18
58. Ming Li, Olivier Rouaud, Denis Poncelet. Microencapsulation by Solvent Evaporation: State of the Art for Process Engineering Approaches // International Journal of Pharmaceutics. – 2008. – Vol.363. – P. 26-39
59. Ali Nokhodchi, Djavad Farid. Microencapsulation of Paracetamol // Pharmaceutical Technology. – 2002. – P. 56-60
60. Anil Kumar Anal, Harjinder Singh. Recent Advances in Microencapsulation of Probiotics for Industrial Applications and Targeted Delivery // Trends in Food Science & Technology. – 2007. – Vol.18. – P. 240-251
61. Xiao Jun-xia, Yu Hai-yan, Yang Jian. Microencapsulation of Sweet Orange Oil by Complex Coacervation With Soybean Protein Isolate Gum Arabic // Food Chemistry. – 2011. – Vol.125. – P. 1267-1272
62. Bhattacharyya A., Argillier J-F. Microencapsulation by Complex Coacervation: Effect of Cationic Surfactants // J. Surface Sci. Technol. – 2005. – Vol. 21. – P. 161-168
63. Patel K.R., Mukesh R. Patel, Tarak J. Mehta et al. Microencapsulation: Review on Novel Approaches // International Journal Of Pharmacy & Technology. – 2011. – Vol.3. – P. 894-911

64. Vishnu P., Ravindrababu B., Sudheer B. et al. Formulation and Optimization of Verapamil Hydrochloride Microcapsules // International Journal of Pharmacy. – 2011. – Vol.1. – P. 54-58
65. M. Eigen, Naturwiss. 1971, 33a, 465.
66. G. Nicolis, I. Prigogine, Self- organization in non-equilibrium systems, Wiley, New York, 1977
67. S. Mann, Nature 1993, 365, 499
68. B. R. Heywood and S. Mann, Adv. Mater. 1994, 6, 9.
69. A. H. Heuer, D. J. Fink, V. J. Laraia, J. L. Arias, P. D. Calvert, K. Kendall, G. L. Messing, J. Blackwell, P. C Rieke, D. H. Thompson, A. P. Wheeler, A. Veis and A. I. Caplan, Science 1992, 255, 1098
70. Y. Zhang and N. C Seeman, J. Am Chem. Soc. 1994, 116, 1661.
71. Основы научных исследований в агрономии /В.Ф. Моисейченко, М.Ф. Трифонова, А.Х. Заверюха, В.Е. Ещенко. – М.: Колос, 1996. – 336 с.: ил. – (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений).
72. Сарафанова Л.А. Пищевые добавки: Энциклопедия. – 2-е изд., испр. и доп. – СПб: ГИОРД, 2004. – 808 с.

Приложение 1.

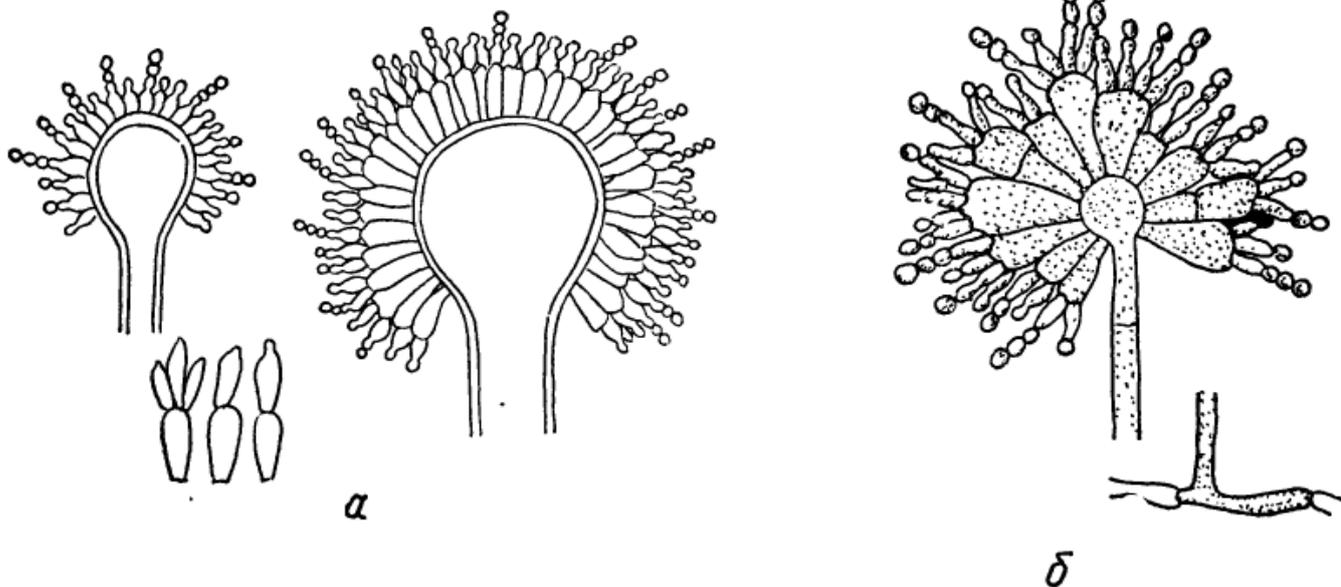


Рис. 34. Варианты строения головки конидиеносцев *Aspergillus*.:  
*a* — одноярусные; *б* — двухъярусные фиалиды.

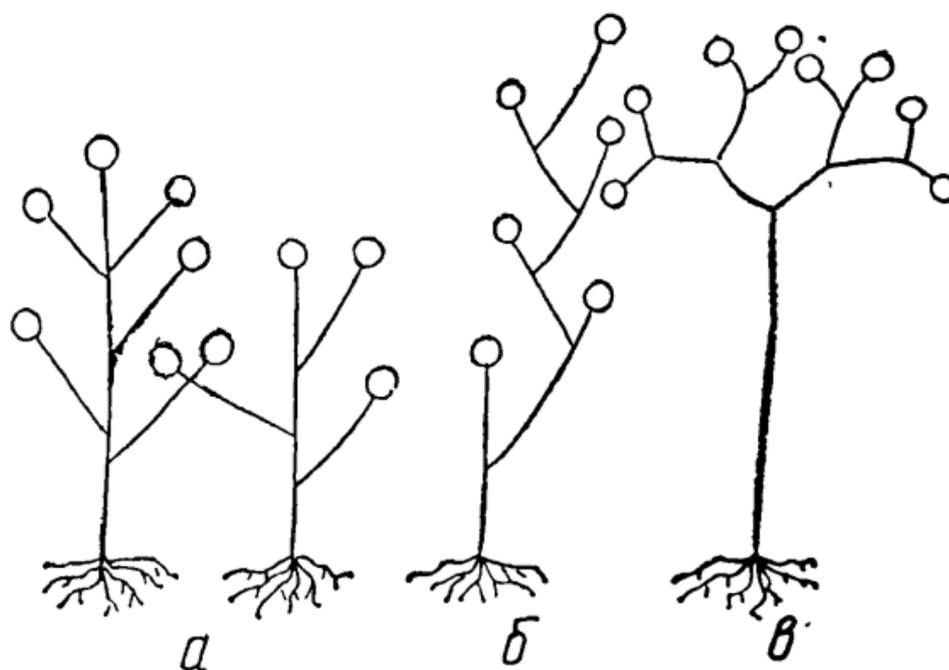


Рис. 33. Типы ветвления конидиеносцев:

*a* — моноподиальное; *б* — симподиальное; *в* — дихотомическое.

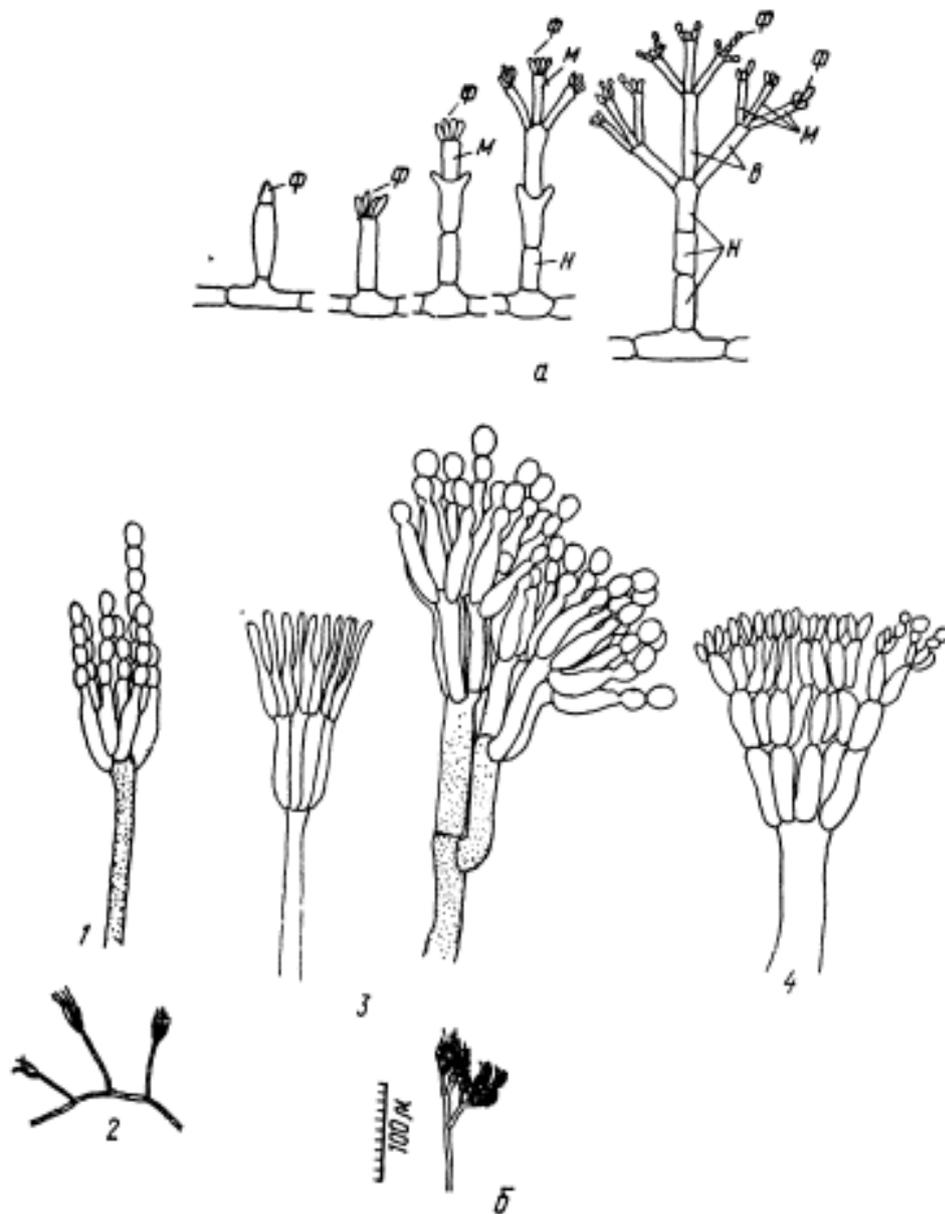


Рис. 35. Схема развития конидиеносцев у *Penicillium* (а):

Ф — фиалиды; М — метули; В — веточки; Н — ножка.

Типы конидиеносцев (б):

1 — одномутовчатые моновертциллатные; 2 — двумутовчатые бивертциллатные; 3 — многомутовчатые асимметрические; 4 — поливертциллатные.

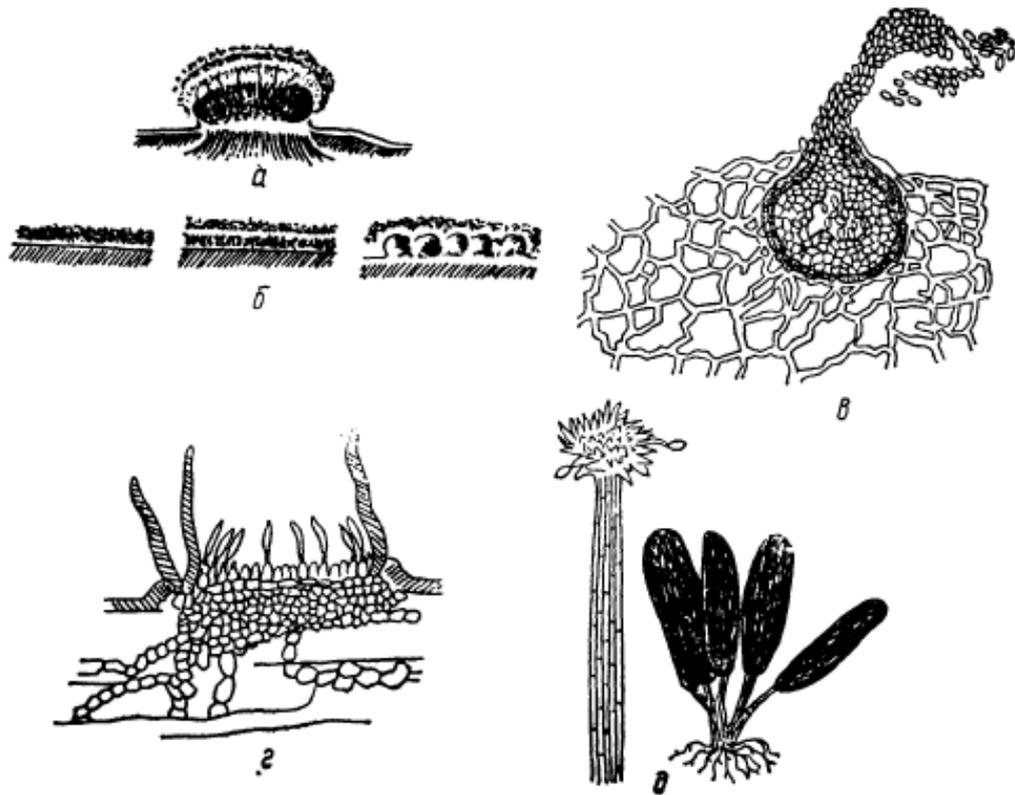


Рис. 36. Виды скоплений конидиеносцев:  
*a* — спородохий; *b* — пионнот; *c* — пикнида; *d* — спороложе; *e* — коремий.

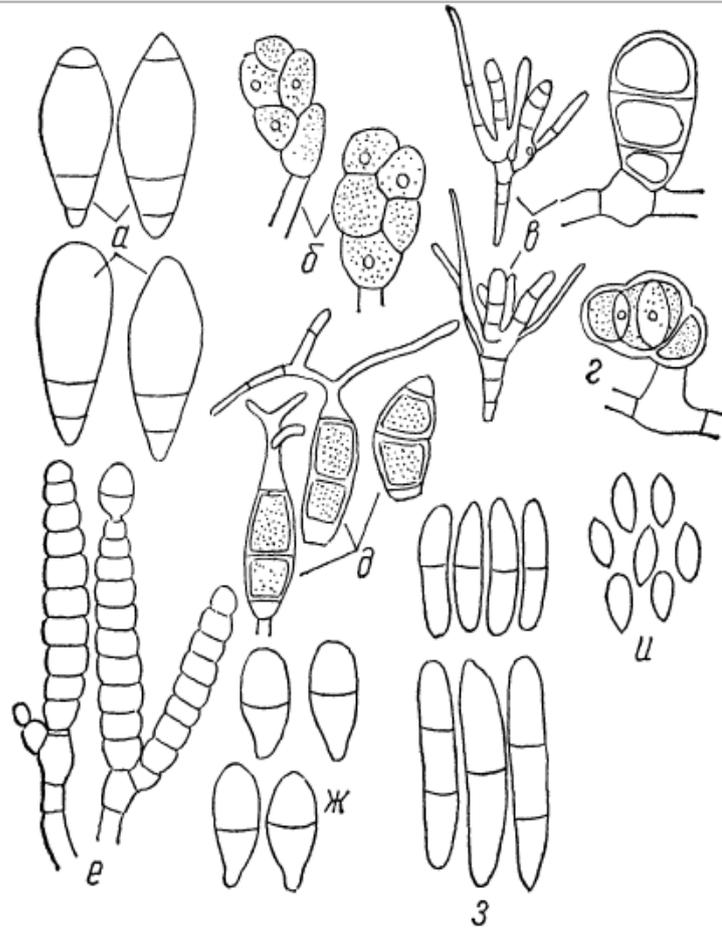


Рис. 38. Конидии:

а — *Monacrosporium psychrophilum*; б — *Monodyctis levis*; в — *Tetracladium setigenum*; г — *Trichocladium opacum*; д — *Pestalotia truncata* (*Truncatella truncata*); е — *Dendryphion nanum*; ж — *Trichothecium roseum*; з — *Cylindrocarpon*; и — *Hyalobotrys elegans*.

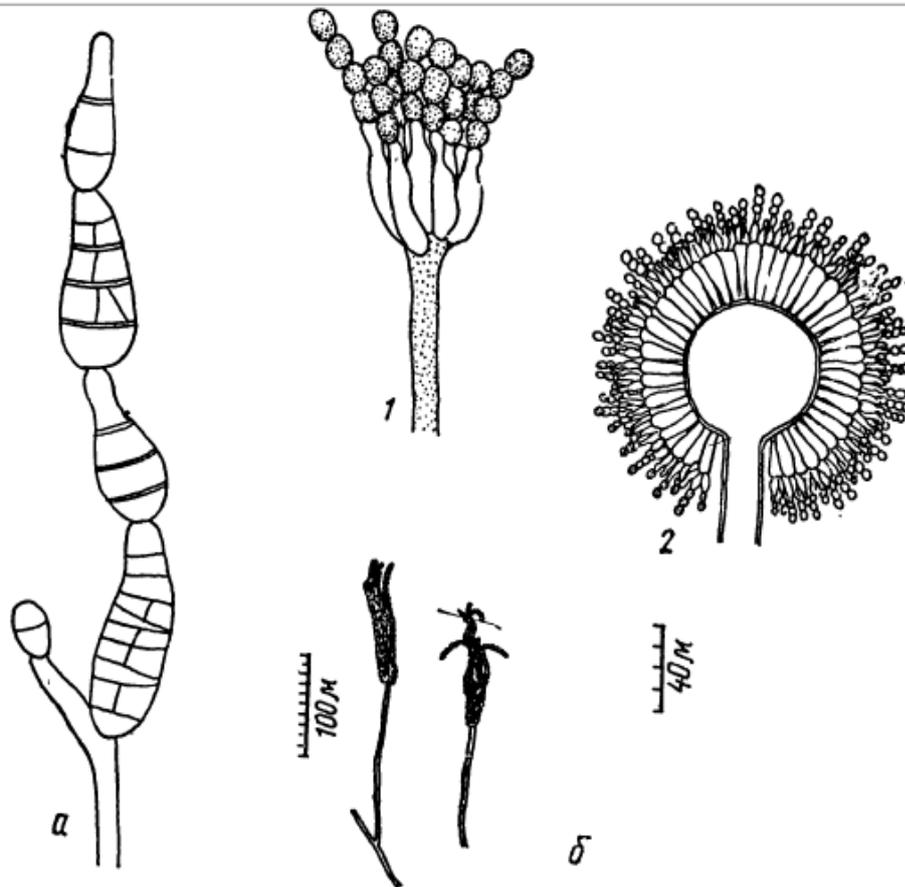


Рис. 39. Способы образования конидий в цепочках:  
 а — акропетальный (тип *Alternaria*); б — базипетальный (1 — тип *Penicillium*, 2 — тип *Aspergillus*).

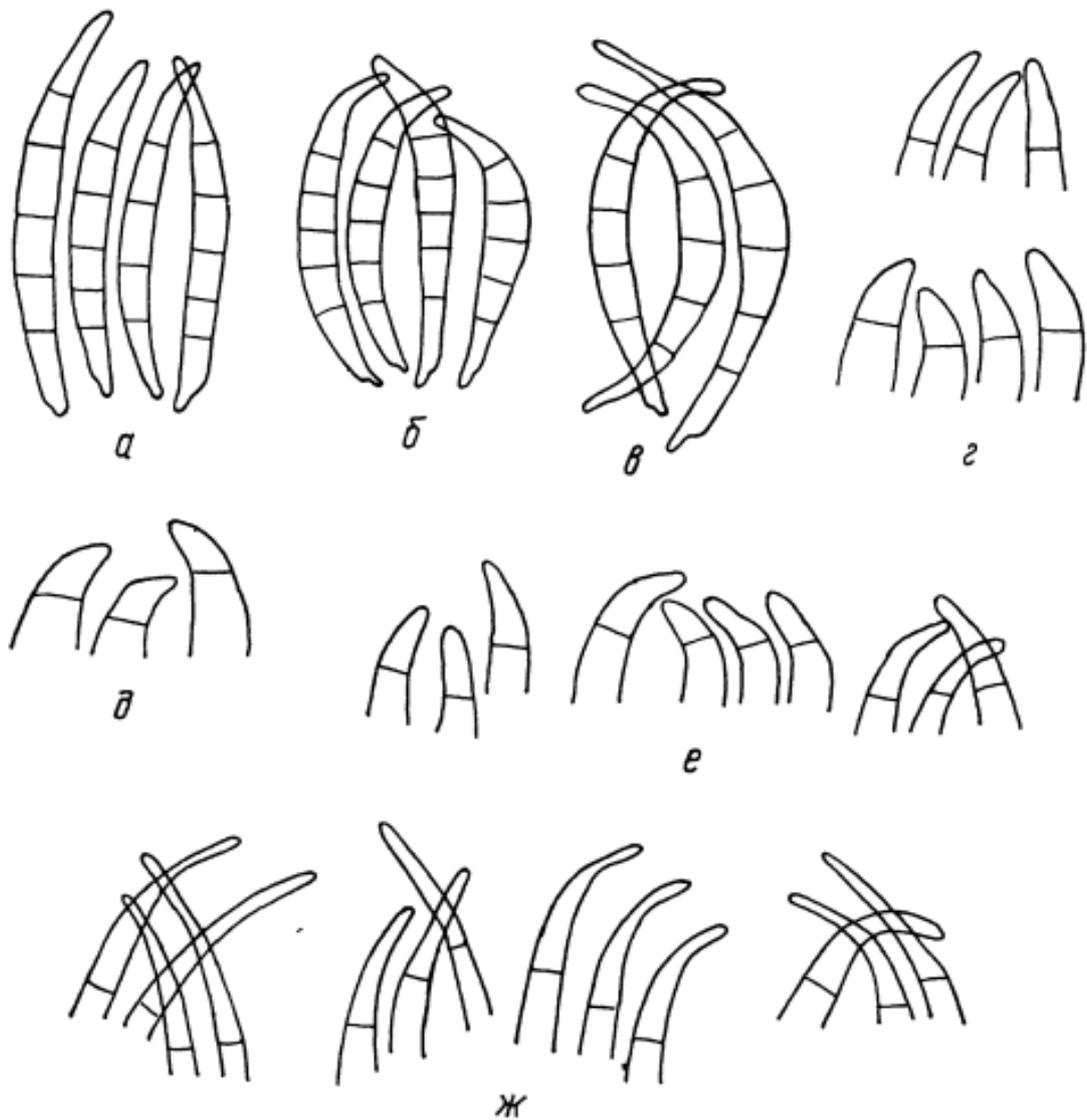


Рис. 40. Форма макроконидий рода *Fusarium*:

*а* — эллиптическая; *б* — параболическая; *в* — гиперболическая.

Форма верхней клетки:

*г* — слегка суженная; *д* — внезапно суженная короткая коническая; *е* — сильно и резко суженная удлиненная; *ж* — сильно и постепенно суженная нитевидно удлиненная.

Таблица. Противогрибковые препараты, используемые в офтальмологии

Класс препаратов	Препараты	Примечания
Полиеновые антибиотики	Амфотерицин	Связывается со стеринами в клеточной мембране грибка и изменяет проницаемость данной мембраны, что ведет к гибели микроорганизма. Оказывает фунгистатическое и фунгицидное действие. При системном введении плохо проникает в стекловидное тело глаза. Субконъюнктивальное введение мало эффективно [Врод]. Активен против грибов рода <i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i> и <i>Aspergillus</i>
Имазазолы		Связываются со стенкой клеток грибов и изменяют внутриклеточную концентрацию электролитов. Имеют фунгистатическое действие
	Флюконазол (Дифлюкан)	Быстроазол широкого спектра действия, селективно ингибирует грибковый цитохром P-450 и стерол С-14 α-деметил, блокирует превращение ланостерола в эргостерол, что нарушает клеточную стенку. Эффективен против грибов рода <i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i> и <i>Aspergillus</i> . Отменяется хорошее интравитреальное проникновение после системного введения
	Кетоконазол (Низорал)	Фунгистатическое действие. Активен против <i>Blastomyces dermatitidis</i> , <i>C. immitis</i> , <i>Candida</i> , <i>Fusarium</i> , в ряде случаев — <i>Aspergillus</i> .
	Итраконазол (Споранокс)	Синтетический триазол
	Миконазол (Абсорбин, Фанмазол)	Назначается внутривенно в связи с плохой абсорбцией из ЖКТ. Используется как препарат 2-й линии в лечении от грибов родов <i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Aspergillus</i> и конидиомицетов. Используется в случае рефрактерности к Амфотерицину В
	Вориконазол (Вифенд)	Триазол. Используется для парентерального лечения инвазивного аспергиллеза и терапии спасения при инфекции, вызываемой грибами рода <i>Fusarium</i> или <i>Scedosporium apiosporum</i>
Хинолоновые препараты		Фторированные пиримидины. Используются в комбинации с другими агентами в связи с частым возникновением резистентности при использовании как моноагента
	Флуцитозин (Анкобон)	Становится активным после проникновения в клетку и превращения во флуорацил, ингибирует синтез тимидина. Подавляет репликацию РНК и синтез белков. Активен против грибов <i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i> . Используется в основном в комбинации с Амфотерицином В. Клетки млекопитающих не способны превращать флуцитозин во флуорацил, поэтому флуцитозин не токсичен для человека
Эхинокандины		Ингибируют синтез клеточной стенки
	Каспофунгин (Кансидас)	Используется при лечении рефрактерного аспергиллеза. Ингибирует синтез β-(1,3)-D-глюкана, ключевого компонента клеточной стенки

## Приложение 9. Первичные данные.

Результаты подсчета зоны ингибирования дисков с растворами солей тяжелых металлов (мм).

№	NiSO <sub>4</sub>								
	Натив	Карр		Альг		гелл		кмц	
		1:1	1:3	1:1	1:3	1:1	1:3	1:1	1:3
1	14	10	3	10	5	12	10	25	15
2	14	7	3	5	5	12	10	25	15
3	13	10	4	13	5	15	10	20	25
4	14	6	4	8	5	10	10	10	15
5	13	15	4	9	8	10	11	10	19
6	14	15	4	10	8	10	11	20	15
7	14	15	3	8	6	10	12	20	25
8	15	16	4	10	6	10	10	15	20
9	14	15	3	5	5	10	12	15	15
10	13	16	4	10	5	15	10	17	10
11	13	16	3	13	6	6	10	20	15
12	13	16	5	10	5	5	9	25	10
13	15	15	5	10	7	5	8	17	15
14	11	15	5	10	7	7	10	10	15
15	10	15	5	7	5	6	5	20	15
16	13	15	4	6	5	6	5	20	20
17	11	16	3	7	5	10	5	20	25
18	7	11	4	6	4	10	7	15	20

19	11	9	3	7	4	11	5	16	15
20	11	10	4	6	4	10	8	20	14
21	12	10	4	8	3	11	9	15	15
22	9	5	3	10	4	10	9	20	10
23	10	6	5	3	5	10	9	20	20
24	10	6	5	10	5	11	9	15	20
Ср.	12,25	12,08	3,9	8,3	5,2	9,68	8,9	18	16,8

		CuSO <sub>4</sub>							
№	Натив	Карр		Альг		гелл		Кмц	
		1:1	1:3	1:1	1:3	1:1	1:3	1:1	1:3
1	15	15	7	11	11	15	13	15	15
2	10	10	7	10	10	15	12	20	15
3	15	10	7	11	10	14	13	25	10
4	13	10	7	12	10	15	12	15	11
5	15	15	8	15	10	15	12	15	15
6	16	15	8	7	10	15	12	15	10
7	14	15	8	11	10	15	13	15	11
8	15	15	8	11	10	10	13	10	15
9	20	15	8	15	10	15	14	15	10
10	15	10	6	8	10	15	13	15	11
11	12	10	6	10	10	15	14	15	15

12	15	15	7	11	10	15	13	15	10
13	11	10	7	10	10	10	14	17	15
14	11	11	6	10	10	10	14	12	12
15	11	11	6	10	10	8	12	15	14
16	11	10	7	10	10	11	12	15	16
17	11	15	6	7	10	11	12	15	16
18	15	10	7	7	6	12	11	15	15
19	15	13	7	7	6	12	11	12	15
20	10	12	6	7	6	9	10	18	15
21	11	15	7	10	6	9	10	12	15
22	11	15	8	10	6	10	10	10	15
23	15	13	8	10	6	12	10	15	15
24	11	15	8	10	6	15	10	15	15
Ср.	13,25	12,7	7,08	10	8,8	12,6	12,08	15	13,5

№	CoSO <sub>4</sub>								
	Натив	Карр		альг		гелл		кМЦ	
		1:1	1:3	1:1	1:3	1:1	1:3	1:1	1:3
1	7	5	3	5	4	18	7	10	10
2	10	5	3	5	4	11	7	15	10
3	5	5	3	2	3	10	6	15	10
4	11	10	3	3	3	10	6	20	8
5	5	5	3	5	3	10	5	14	5
6	5	3	3	4	3	9	5	15	5

7	3	3	2	4	3	10	5	20	5
8	4	3	2	5	3	20	5	14	5
9	15	2	3	2	4	10	5	10	5
10	7	2	3	2	4	10	5	15	5
11	3	2	3	3	4	10	5	17	5
12	3	2	2	3	4	10	5	15	5
13	3	2	2	2	4	9	6	15	10
14	10	2	2	2	4	5	6	20	10
15	5	2	2	2	4	8	7	12	10
16	5	2	2	3	4	9	5	19	10
17	5	5	2	4	3	10	5	10	10
18	5	2	2	5	3	8	6	15	5
19	5	9	3	6	3	9	6	20	15
20	3	9	3	2	3	10	5	15	10
21	10	2	3	2	3	9	6	12	7
22	5	2	3	3	3	8	5	11	5
23	3	2	3	2	2	9	6	18	5
24	5	2	3	2	2	10	6	15	4
Cp.	5,9	3,6	2,6	3	3,3	10	5,6	15	7,2

Результаты статистической обработки первичных данных антимицозной активности для нативного NiSO<sub>4</sub> и наноструктурированных сульфатов никеля.

№ № п/ п	Варианты	Число повторностей, n	Средняя арифметич еская, $\bar{X}$	Ошибка среднего, Sd	Критерий достоверност и Стьюдента, $t_{\text{факт}}$
1	Нативный NiSO <sub>4</sub> (контроль)	24	12,25		
2	Наноструктурированны й, каррагинан 1:1 (1.1)	24	12,083	Sd <sub>1-1.1</sub> = 0.9	t <sub>1-1.1</sub> = 0.183
3	Наноструктурированны й, каррагинан 1:3 (1.2)	24	3,917	Sd <sub>1-1.2</sub> = 0.44 Sd <sub>1.1-1.2</sub> = 0,82	t <sub>1-1.2</sub> = 18.64* t <sub>1.1-1.2</sub> = 9,926*
4	Наноструктурированны й, альгинат 1:1 (2.1)	24	8,375	Sd <sub>1-2.1</sub> = 0.65 Sd <sub>1.1-2.1</sub> = 0,95	t <sub>1-2.1</sub> = 5.9* t <sub>1.1-2.1</sub> = 3,891*
5	Наноструктурированны й, альгинат 1:3 (2.2)	24	5,296	Sd <sub>1-2.2</sub> = 0.46 Sd <sub>2.1-2.2</sub> = 0.57 Sd <sub>2.2-1.2</sub> = 0,29	t <sub>1-2.2</sub> = 15.094* t <sub>2.1-2.2</sub> = 4,976* t <sub>2.2-1.2</sub> = 4,625*
6	Наноструктурированны й, геллан 1:1 (3.1)	24	9,68	Sd <sub>1-3.1</sub> = 0.67 Sd <sub>3.1-1.1</sub> = 0,97 Sd <sub>3.1-2.1</sub> = 0,74	t <sub>1-3.1</sub> = 3.809* t <sub>3.1-1.1</sub> = 2,478* t <sub>3.1-2.1</sub> = 1,732**
7	Наноструктурированны й, геллан 1:3 (3.2)	24	8,9	Sd <sub>1-3.2</sub> = 0.6 Sd <sub>3.1-3.2</sub> = 0,69 Sd <sub>3.2-1.2</sub> = 0,46 Sd <sub>3.1-2.2</sub> = 0,5	t <sub>1-3.2</sub> = 5.533* t <sub>3.1-3.2</sub> = 1,074** t <sub>3.2-1.2</sub> = 10,83* t <sub>3.2-2.2</sub> = 7,229*

Примечание (здесь и далее):

\*- разность существенна на уровне  $p < 0,05$ ;

\*\* - разность существенна на уровне  $p < 0,01$ ;

\*\*\* - разность существенна на уровне  $p < 0,001$ .

Результаты статистической обработки первичных данных антимикозной активности для нативного  $\text{CuSO}_4$  и наноструктурированных сульфатов меди.

№ № п/ п	Варианты	Число повторностей , n	Средняя арифметическая , $\bar{X}$	Ошибка среднего , Sd	Критерий достоверност и Стьюдента, $t_{\text{факт}}$
1	Нативный $\text{CuSO}_4$ (контроль)	24	13,25		
2	Наноструктурированный , каррагинан 1:1 (1.1)	24	12,708	Sd <sub>1-1.1</sub> = 0,69	$t_{1-1.1} = 0,778$
3	Наноструктурированный , каррагинан 1:3 (1.2)	24	7,083	Sd <sub>1-1.2</sub> = 0,53 Sd <sub>1.1-1.2</sub> = 0,49	$t_{1-1.2} = 11,514^*$ $t_{1.1-1.2} = 11,3^*$
4	Наноструктурированный , альгинат 1:1 (2.1)	24	10	Sd <sub>1-2.1</sub> = 0,67 Sd <sub>1.1- 2.1</sub> = 0,64	$t_{1-2.1} = 4,805^*$ $t_{1.1-2.1} = 4,187^*$
5	Наноструктурированный , альгинат 1:3 (2.2)	24	8,875	Sd <sub>1- 2.2</sub> = 0,64 Sd <sub>2.1- 2.2</sub> = 0,41 Sd <sub>2.2- 1.2</sub> = 0,29	$t_{1-2.2} = 6,82^*$ $t_{2.1-2.2} = 1,914$ $t_{2.2-1.2} = 4,286^*$
6	Наноструктурированный , геллан 1:1 (3.1)	24	12,625	Sd <sub>1- 3.1</sub> = 0,72 Sd <sub>3.1- 1.1</sub> = 0,69 Sd <sub>3.1- 2.1</sub> = 0,67	$t_{1-3.1} = 0,862$ $t_{3.1-1.1} = 0,119$ $t_{3.1-2.1} = 3,873^*$
7	Наноструктурированный	24	12,083	Sd <sub>1- 3.2</sub>	$t_{1-3.2} = 1,997$

	, желлан 1:3 (3.2)			$s_{3.2}=0,58$ $Sd_{3.1-3.2}=0,58$ $Sd_{3.2-1.2}=0,32$ $Sd_{3.1-2.2}=0,47$	$t_{3.1-3.2}=0,925$ $t_{3.2-1.2}=15,47^{**}$ $t_{3.2-2.2}=6,703^{**}$
--	--------------------	--	--	---	---

Примечание (здесь и далее):

\*- разность существенна на уровне  $p < 0,05$ ;

\*\* - разность существенна на уровне  $p < 0,01$ ;

\*\*\*- разность существенна на уровне  $p < 0,001$ .

## Приложение 12.

Результаты статистической обработки первичных данных антимицозной активности для нативного  $CoSO_4$  и наноструктурированных сульфатов кобальта.

№ № п/ п	Варианты	Число повторностей , n	Средняя арифметическая , $\bar{X}$	Ошибка среднего , Sd	Критерий достоверност и Стьюдента, $t_{факт}$
1	Нативный $CoSO_4$ (контроль)	24	5,917		
2	Наноструктурированный , каррагинан 1:1 (1.1)	24	3,667	$Sd_{1-1.1} = 0,81$	$t_{1-1.1} = 2,759^{**}$
3	Наноструктурированный , каррагинан 1:3 (1.2)	24	2,625	$Sd_{1-1.2} = 0,64$ $Sd_{1.1-1.2} = 0,52$	$t_{1-1.2} = 5,105^{**}$ $t_{1.1-1.2} = 2,084^{**}$
4	Наноструктурированный , альгинат 1:1 (2.1)	24	3	$Sd_{1-2.1} = 0,67$ $Sd_{1.1-2.1} = 0,57$	$t_{1-2.1} = 4,318^{**}$ $t_{1.1-2.1} = 0,722$
5	Наноструктурированный	24	3,333	$Sd_{1-}$	$t_{1-2.2} = 3,975^{**}$

	, альгинат 1:3 (2.2)			2.2=0,65 Sd <sub>2.1-2.2</sub> 2.2=0,3 Sd <sub>2.2-1.2</sub> 1.2=0,16	t <sub>2.1-2.2</sub> =0,277 t <sub>2.2-1.2</sub> =4,303**
6	Наноструктурированный , желлан 1:1 (3.1)	24	10	Sd <sub>1-3.1</sub> 3.1=0,88 Sd <sub>3.1-1.1</sub> 1.1=0,79 Sd <sub>3.1-2.1</sub> 2.1=0,67	t <sub>1-3.1</sub> =4,712** t <sub>3.1-1.1</sub> =8,045** t <sub>3.1-2.1</sub> =10,188**
7	Наноструктурированный , желлан 1:3 (3.2)	24	5,625	Sd <sub>1-3.2</sub> 3.2=0,65 Sd <sub>3.1-3.2</sub> 0,79 Sd <sub>3.2-1.2</sub> 0,17 Sd <sub>3.1-2.2</sub> 2.2=0,19	t <sub>1-3.2</sub> =0,447 t <sub>3.1-3.2</sub> =7,071** t <sub>3.2-1.2</sub> =16,971** t <sub>3.2-2.2</sub> =11,761**

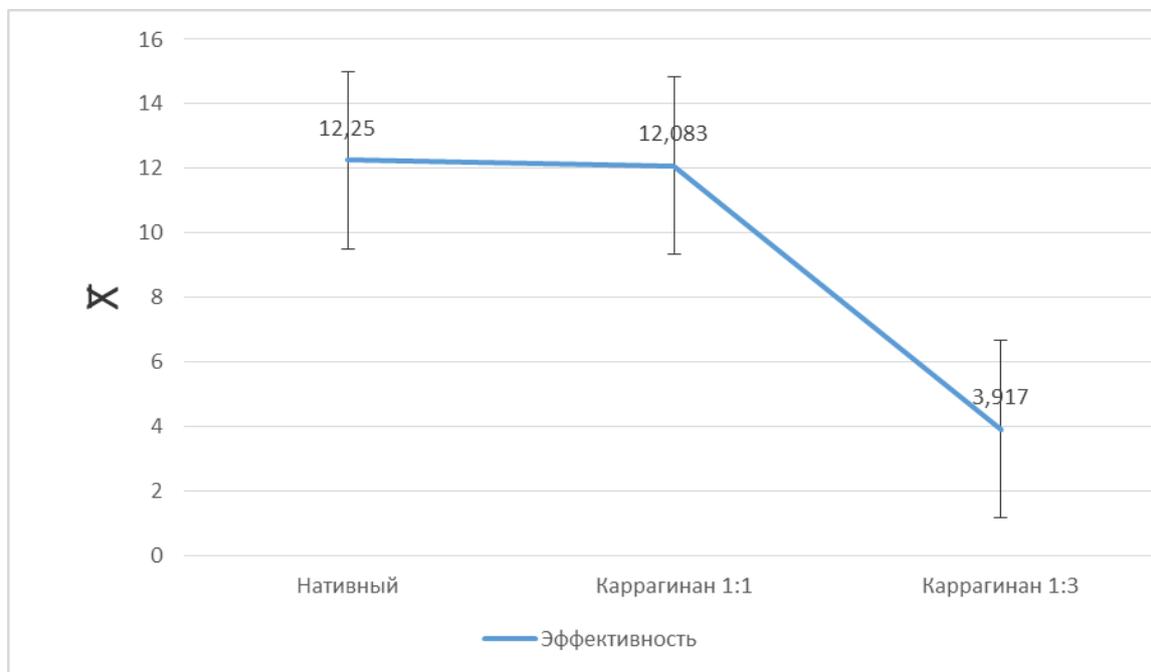
Примечание (здесь и далее):

\*- разность существенна на уровне  $p < 0,05$ ;

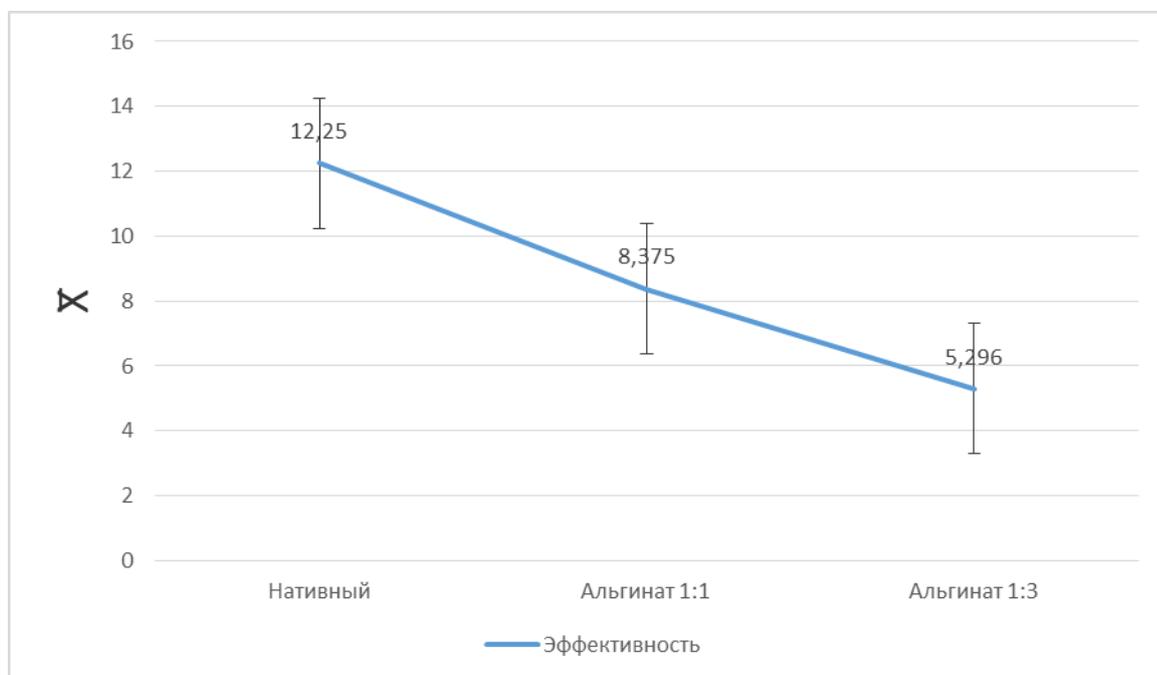
\*\* - разность существенна на уровне  $p < 0,01$ ;

\*\*\* - разность существенна на уровне  $p < 0,001$ .

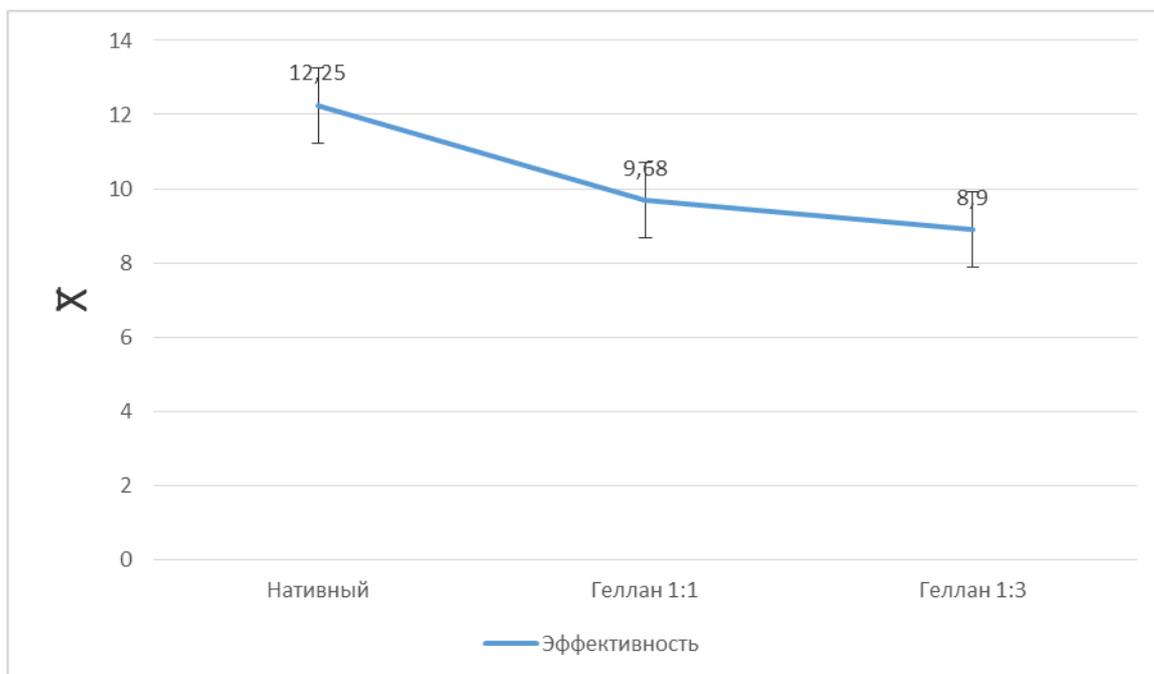
Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата никеля) в зависимости от соотношения ядро:оболочка (каррагинан) относительно нативного.



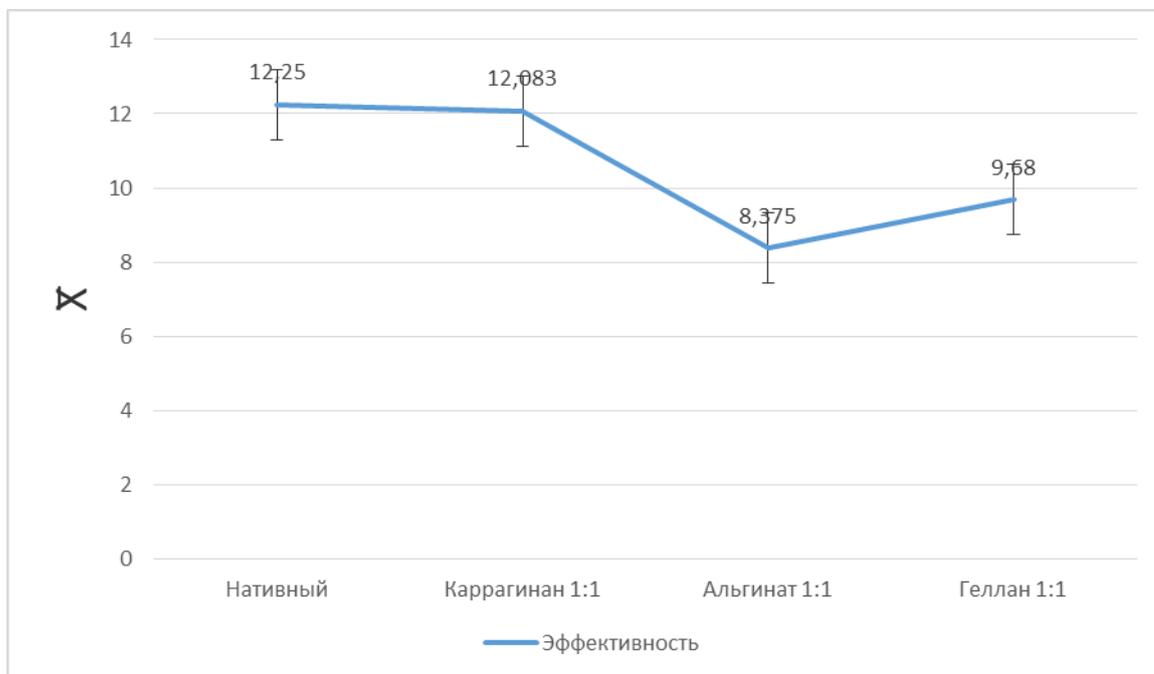
Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата никеля) в зависимости от соотношения ядро:оболочка (альгинат натрия) относительно нативного.



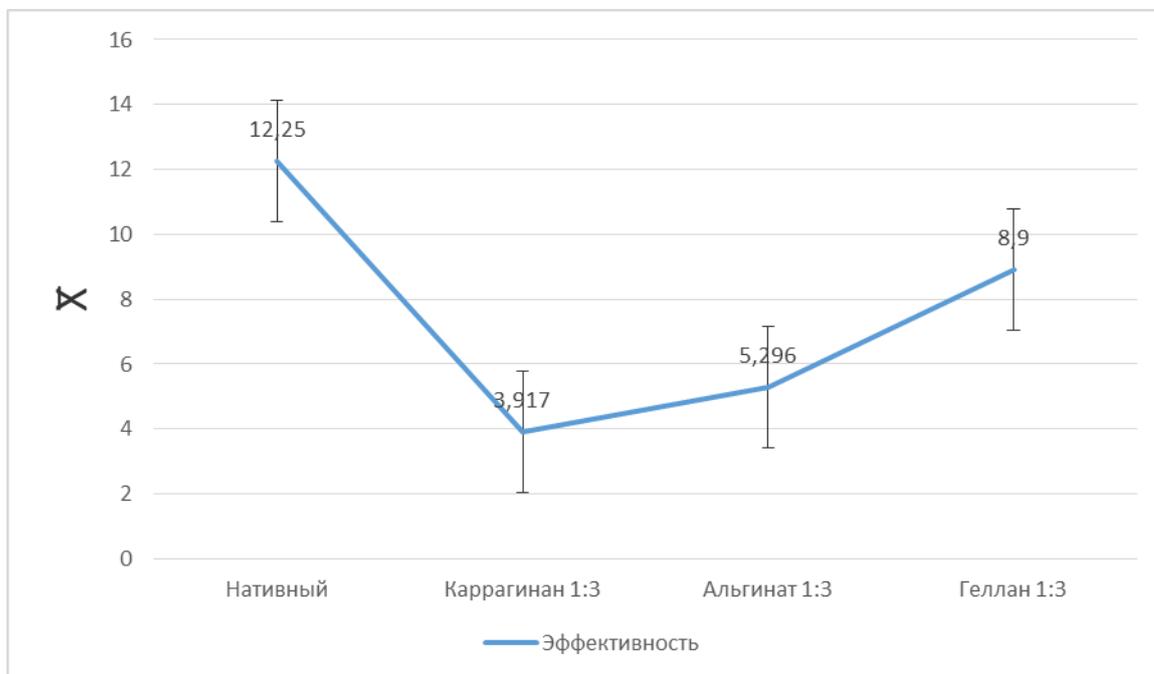
Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата никеля) в зависимости от соотношения ядро:оболочка (геллановая камедь) относительно нативного.



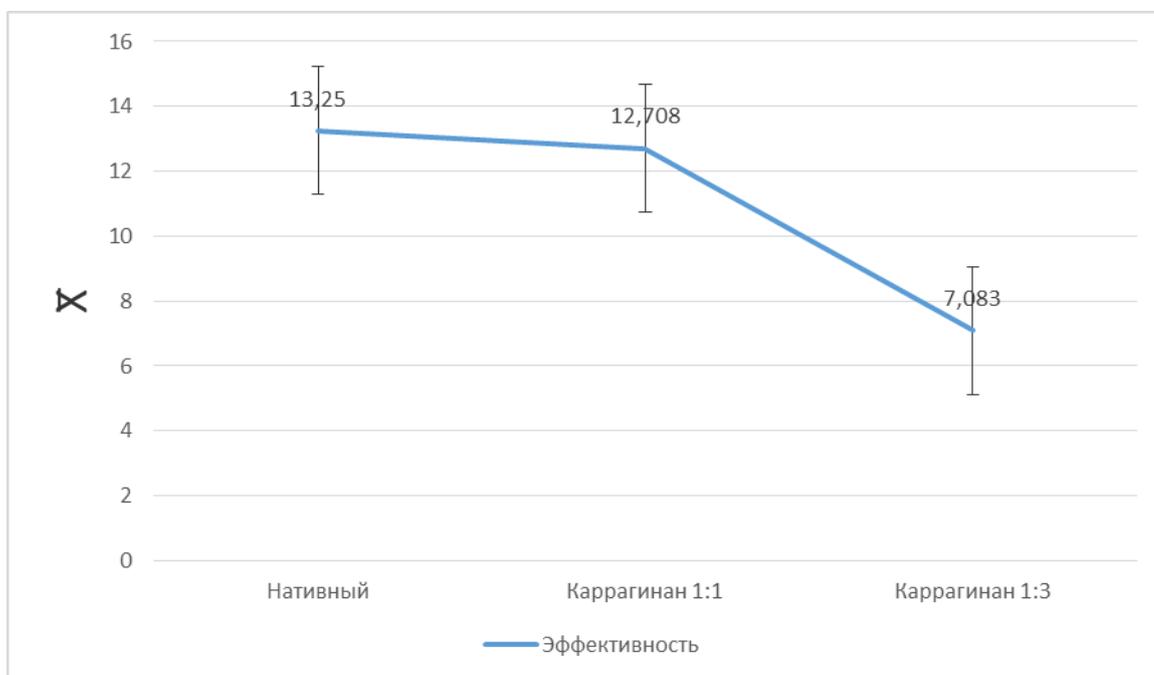
Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата никеля) в различных оболочках между собой (в соотношении ядро:оболочка 1:1).



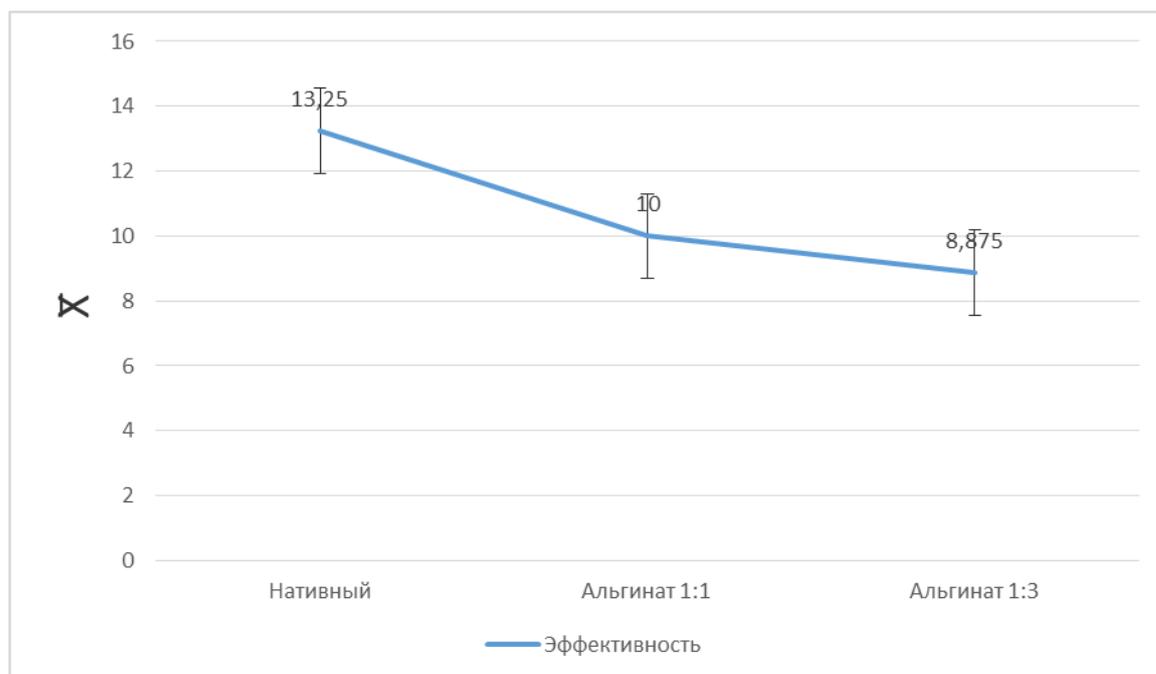
Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата никеля) в различных оболочках между собой (в соотношении ядро:оболочка 1:3).



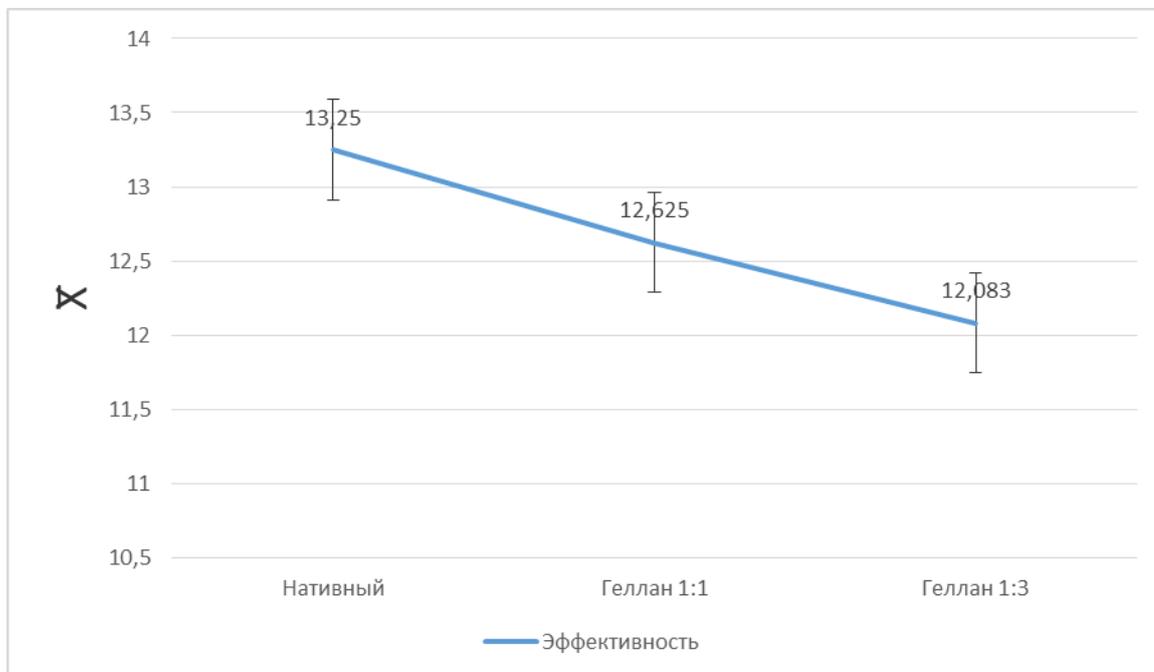
Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата меди) в зависимости от соотношения ядро:оболочка (каррагинан) относительно нативного.



Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата меди) в зависимости от соотношения ядро:оболочка (альгинат натрия) относительно нативного.

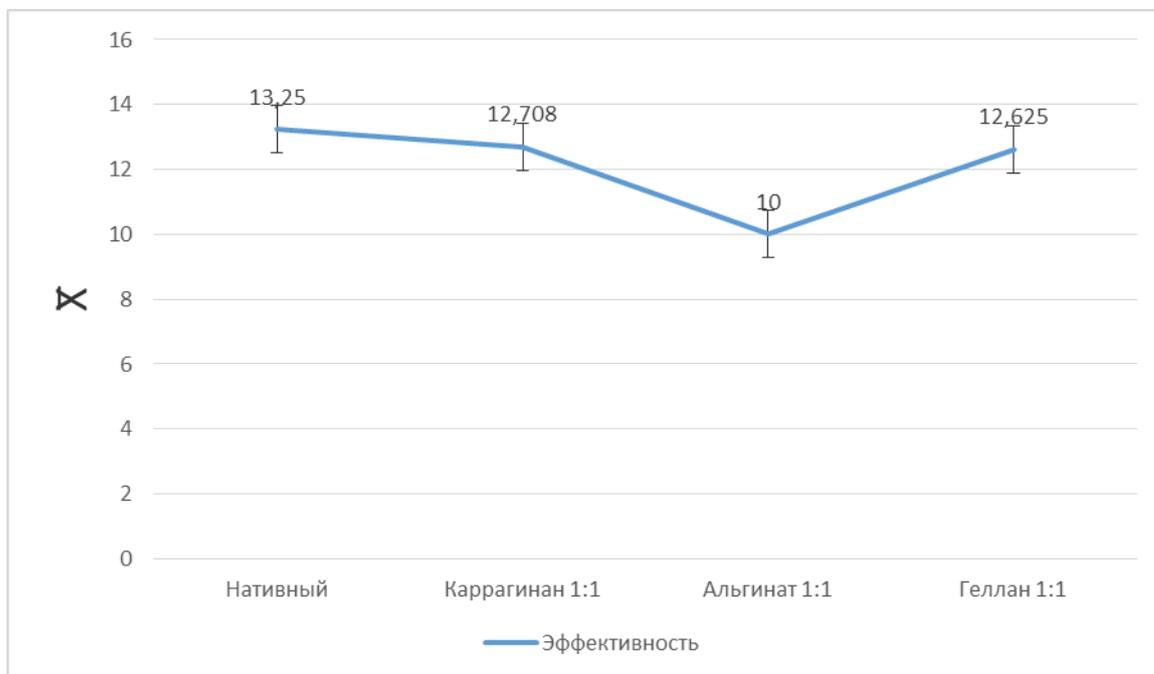


Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата меди) в зависимости от соотношения ядро:оболочка (геллановая камедь) относительно нативного.



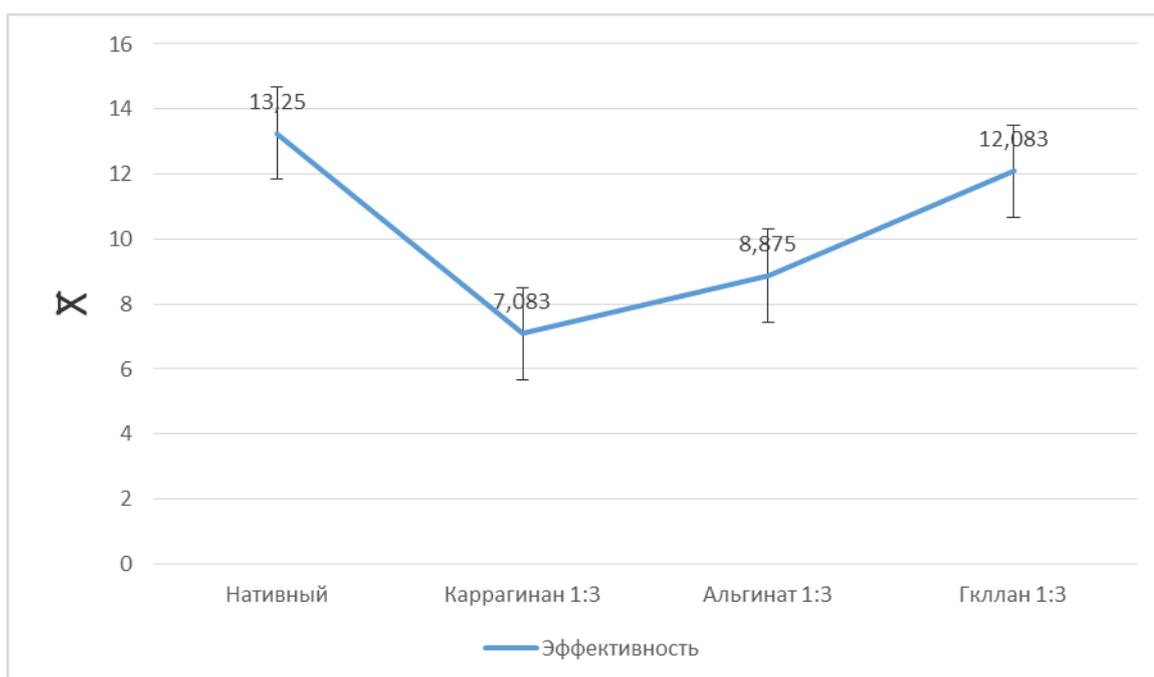
## Приложение 21.

Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата меди) в различных оболочках между собой (в соотношении ядро:оболочка 1:1).

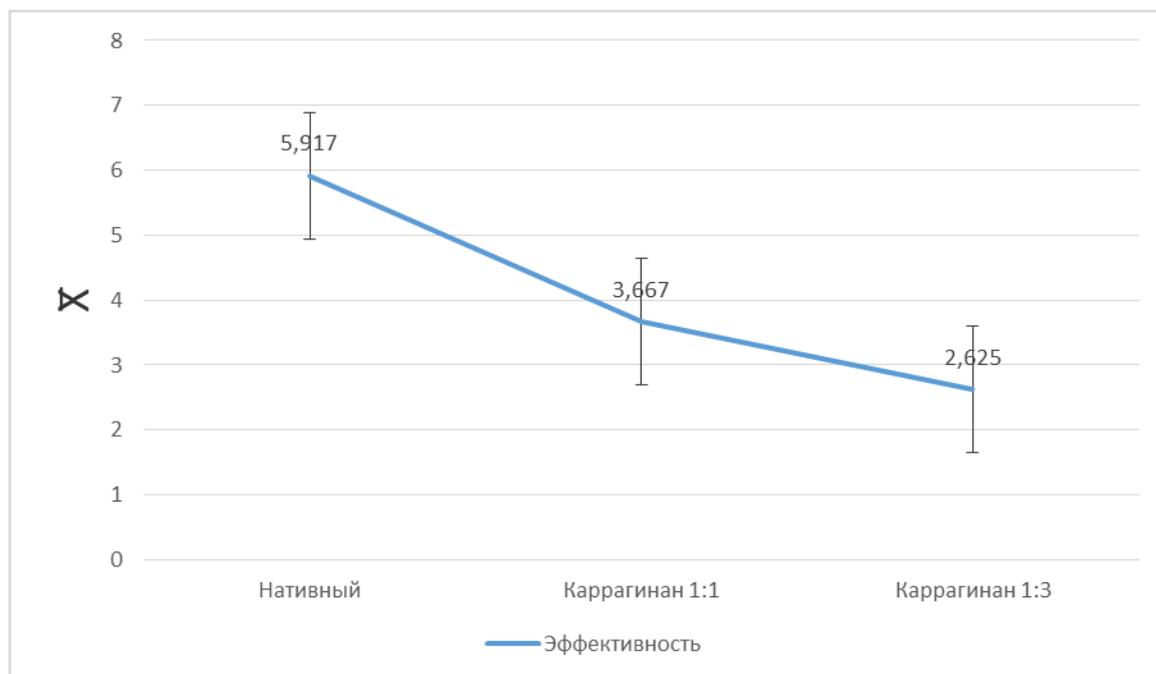


## Приложение 22.

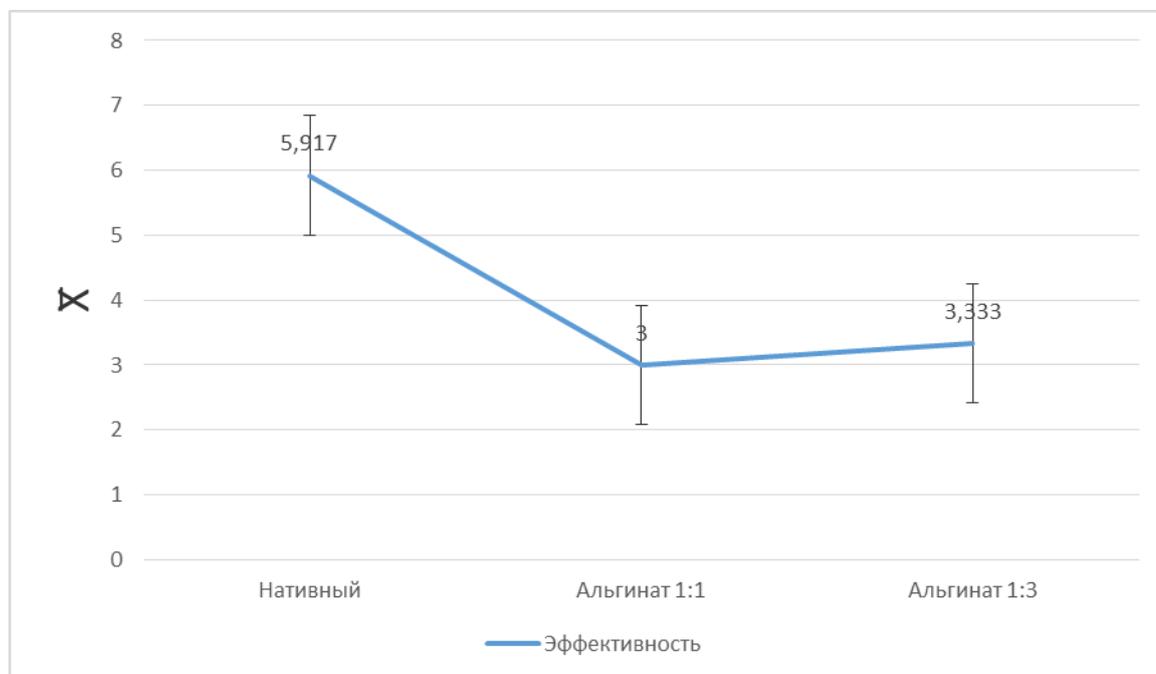
Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата меди) в различных оболочках между собой (в соотношении ядро:оболочка 1:3).



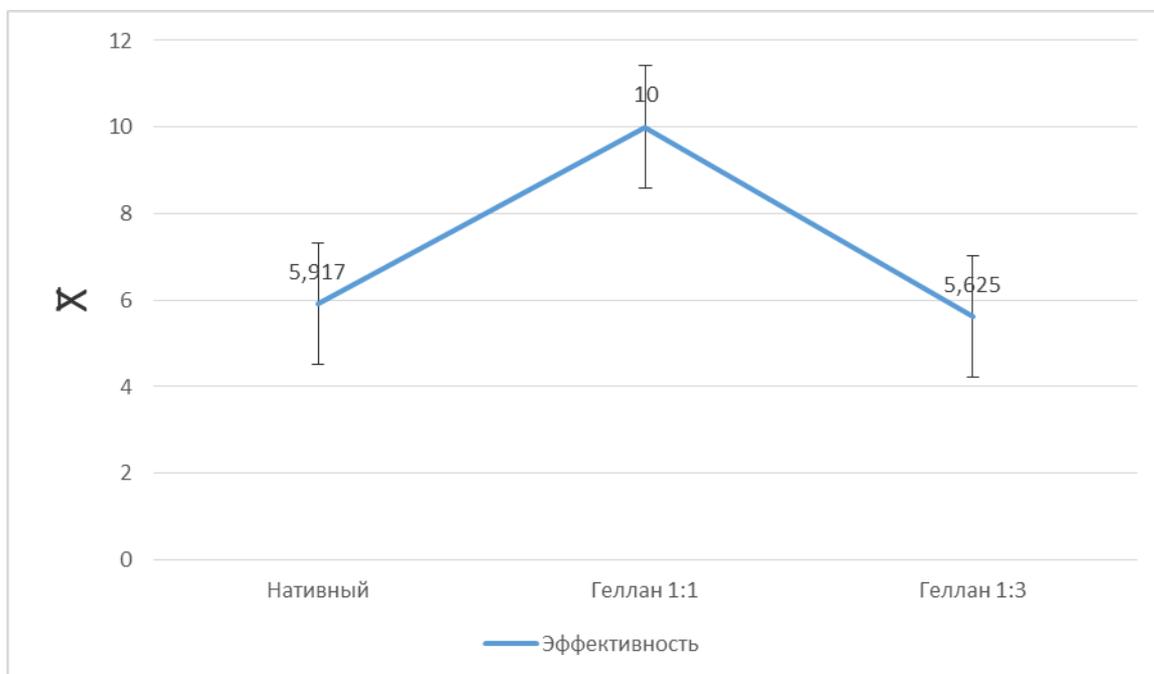
Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата кобальта) в зависимости от соотношения ядро:оболочка (каррагинан) относительно нативного.



Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата кобальта) в зависимости от соотношения ядро:оболочка (альгинат натрия) относительно нативного.

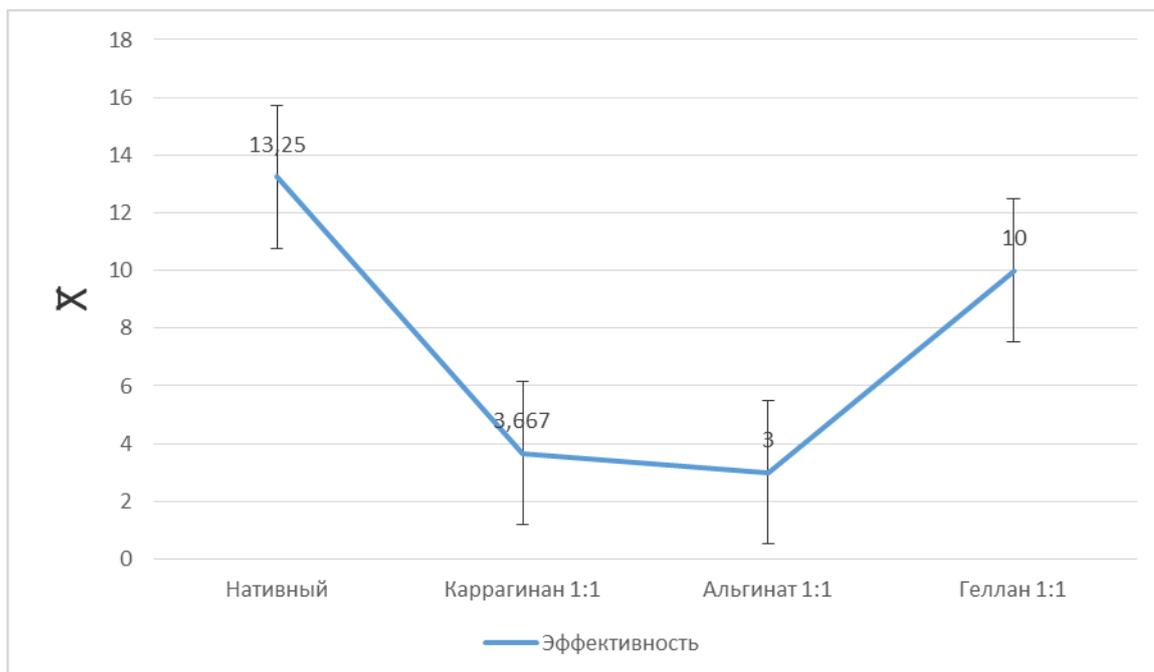


Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата кобальта) в зависимости от соотношения ядро:оболочка (геллановая камедь) относительно нативного.



## Приложение 26.

Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата кобальта) в различных оболочках между собой (в соотношении ядро:оболочка 1:1).



## Приложение 27.

Сравнение эффективности действующего вещества (сульфата кобальта) в различных оболочках между собой (в соотношении ядро:оболочка 1:3).

