



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **98365** (13) **U**  
(51) МПК (2015.01)  
**B22F 9/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

|                                                            |                                                                                                                                                          |                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) Номер заявки:                                         | <b>u 2014 12124</b>                                                                                                                                      | (73) Власник(и): | <b>Ярошенко Маргарита Олегівна,</b><br>вул. Залізнична, 5, смт Мала Данилівка,<br>Дергачівський р-н, Харківська обл., 62341<br>(UA),<br><b>Романько Марина Євгенівна,</b><br>вул. Луї Пастера, 322, кв. 176, м. Харків,<br>61176 (UA),<br><b>Оробченко Олександр Леонідович,</b><br>вул. Блюхера, 35/81, кв. 422, м. Харків,<br>61123 (UA),<br><b>Куцан Олександр Тихонович,</b><br>вул. Н. Ужвій, 80, кв. 196, м. Харків, 61195<br>(UA) |
| (22) Дата подання<br>заявки:                               | <b>10.11.2014</b>                                                                                                                                        |                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| (24) Дата, з якої є<br>чинними права на<br>корисну модель: | <b>27.04.2015</b>                                                                                                                                        |                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| (46) Публікація<br>відомостей про<br>видачу патенту:       | <b>27.04.2015, Бюл.№ 8</b>                                                                                                                               |                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| (72) Винахідник(и):                                        | <b>Ярошенко Маргарита Олегівна (UA),<br/>Романько Марина Євгенівна (UA),<br/>Оробченко Олександр Леонідович (UA),<br/>Куцан Олександр Тихонович (UA)</b> |                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |

## (54) ФУНГІСТАТИЧНИЙ НАНОКОМПЛЕКС АРГЕНТУМУ І КУПРУМУ ЩОДО МІКРОМІЦЕТІВ РОДУ ASPERGILLUS

### (57) Реферат:

Фунгістатичний наноконплекс Аргентуму і Купруму щодо мікрорміцетів роду Aspergillus містить наночастинки біоцидних металів Аргентуму і Купруму. Наноконплекс має фунгіцидну дію, яку визначали за умов *in vitro* на моделі стандартизованого за кількістю спор музейного штаму тест-культури Aspergillus fumigatus (A.VI.III), та має наступний структурний, якісний та кількісний склад за співвідношенням компонентів, об'єм. %:

колоїдний розчин наночастинок Аргентуму (з вихідною концентрацією 1600,0 мкг/см<sup>3</sup> за металом, середнього розміру (~31,5±0,9) нм) - 0,625 %;

колоїдний розчин наночастинок Купруму (з вихідною концентрацією 2560,0 мкг/см<sup>3</sup>, (~70,0±5,0) нм) - 0,391 %;

вода дистильована - 98,984 %.

UA 98365 U



Корисна модель належить до області нанобіотехнологій, а саме до застосування нанотехнологій у ветеринарній медицині, санітарії, мікробіології, мікології.

Відомо, що Аргентум і Купрум мають широкий спектр антимікробної активності щодо аеробної і анаеробної мікрофлори, виявляють віруліцидну та фунгіцидну дію. Тому, наночастинки Аргентуму і Купруму застосовують у створенні комплексних санітарно-гігієнічних засобів нового покоління, які використовують для дезінфекції за умов виникнення вогнищ бактеріальної, вірусної інфекції, уражень мікроскопічними грибами, поверхонь приміщень та обладнання, сільськогосподарських об'єктів (корівники, пташники, свинарники, парники тощо), води і кормів для тварин.

Відомий "Состав для антисептической обработки тканых материалов" (Патент РФ № 2408755. МПК D06M 16/00, B82B 1/00. Оpubл. 10.01.2011), що містить мас. %: 2,0-8,0 очищеного нанодисперсного порошку бентоніту, який інтеркальований іонами  $\text{Ag}^+$  або/та  $\text{Cu}^{2+}$  з дисперсністю наночастинок не більше 150 нм; 0,5-4,0 - зв'язуючого компоненту (сополімер з Mm (30000-450000) на основі модифікованого гідролізованого рослинного протеїну) та решту - полярного розчинника (деіонізована вода).

Недоліком відомого складу є обмеженість сфери застосування, тобто він може бути використаний тільки як біоцидний засіб для антисептичної обробки тканинних матеріалів.

Найближчим аналогом до того, що заявляється є "Металовмісний препарат з біоцидними властивостями" (Деклараційний патент України на корисну модель № 33856 МПК (2006) C09D 5/14, C02F 1/50, B22F 9/00 [Текст] /Металовмісний препарат з біоцидними властивостями /Косінов М.В.; Каплуненко В.Г.; заявник і власник патенту Косінов М.В.; Каплуненко В.Г.; заявл. 24.03.2008-у200803730; опубл. 10.07.2008, бюл. № 13. -4 с.). Металовмісний препарат з біоцидними властивостями містить наночастинки срібла, міді, магнію, цинку, золота, платини, паладію, іридію, олова, сурми. Наночастинки отримані диспергуванням срібних, мідних, магнієвих, цинкових, золотих, платинових, паладієвих, іридієвих, олов'яних, сурм'яних гранул імпульсами електричного струму у воді. При цьому наночастинки металів гідратовані, мають поверхневий електричний заряд, а наночастинки різнорідних металів утворюють короткозамкнуті наногальванічні елементи. Компоненти металовмісного препарату взяті в таких кількостях, мг/л:

|                      |            |
|----------------------|------------|
| наночастинки срібла  | 0,001-0,1  |
| наночастинки міді    | 0,1-50     |
| наночастинки магнію  | 5-500      |
| наночастинки цинку   | 0,5-100    |
| наночастинки золота  | 0,001-0,1  |
| наночастинки платини | 0,001-0,1  |
| наночастинки паладію | 0,001-0,1  |
| наночастинки іридію  | 0,001-0,1  |
| наночастинки олова   | 20-200     |
| наночастинки сурми   | 0,001-0,05 |
| вода                 | решта.     |

Основним недоліком цього металовмісного препарату є відсутність фунгістатичних властивостей щодо плісеньових грибів.

Розроблений фунгістатичний наноконкомплекс Аргентуму і Купруму щодо мікроміцетів роду *Aspergillus*, відрізняється від найближчого аналогу наявністю фунгіцидної дії, яку визначали за умов *in vitro* на моделі стандартизованого за кількістю спор музейного штаму тест-культури *Aspergillus fumigatus* (A.VI.III) та має наступне співвідношення компонентів, об'єм. %:

колоїдний розчин наночастинок Аргентуму (з вихідною концентрацією 1600,0 мкг/см<sup>3</sup> за металом, середнього розміру (~31,5±0,9) нм) - 0,625;

колоїдний розчин наночастинок Купруму (з вихідною концентрацією 2560,0 мкг/см<sup>3</sup>, (~70,0±5,0) нм) - 0,391;

вода дистильована - 98,984.

Композит наночастинок металів Аргентуму і Купруму з фунгіцидною дією складали за результатами визначення фунгіцидних властивостей наночастинок металів (NPMe) - Аргентуму (NPAg) та Купруму (NPCu) - щодо музейного штаму тест-культури *Aspergillus fumigatus*. Дослідні зразки NPMe синтезовані за методом хімічної конденсації [Методические разработки к практикуму по коллоидной химии /под ред. А.В. Перцова. - М.: Изд-во МГУ, 1976. -132 с.] та мають сферичну геометрію.

Визначення фунгіцидних властивостей колоїдних розчинів наночастинок Аргентуму та Купруму щодо музейного штаму тест-культури *Aspergillus fumigatus* проводили за методом підбору варіацій оптимальних біоцидних концентрацій та співвідношень композиційної суміші

наночастинок металів до стандартизованої за кількістю спор грибів у 1 см<sup>3</sup> водної зависі *Aspergillus fumigatus* [Методичні рекомендації "Визначення фунгіцидних властивостей та оптимальних режимів застосування дезінфікуючих засобів на тест-культурах роду *Aspergillus*". М.О. Ярошенко, О.Т. Куцан, Г.М. Шевцова, О.В. Курбацька. Затверджені на засіданні Науково-методичної ради Державного комітету ветеринарної медицини України, протокол № 1, 23-24 грудня 2009 р.].

Для визначення фунгіцидних властивостей колоїдних розчинів NPMe у стерильні пеніцилінові флакончики (або іншу ємкість), з 9 см<sup>3</sup> розчинів NPAg та NPCu у концентраціях 50, 100, 150, 200 та 250 мкг/см<sup>3</sup> (за металом) вносили 1 см робочої зависі (120 спор у 1/5 мм<sup>2</sup>) *Aspergillus fumigatus* і витримували за температури (18-20)°C впродовж 30, 60 і 180 хв.

Після цього, для підрахунку кількості спор, що вижили під дією дослідних концентрацій колоїдних розчинів наночастинок металів, 1 см<sup>3</sup> вмісту флакончика висівали в марковані чашки Петрі і заливали розплавленим і охолодженим до (38-40)°C агаром Чапека ((10-15) см<sup>3</sup> на чашку). На кожне визначення у діапазоні концентрацій та експозицію тест-культури використовували не менш ніж 3 чашки.

Порівняння проводили з "позитивним" (1 см<sup>3</sup> робочої спорової зависі тест-культури музейного штаму розведено у 9 см<sup>3</sup> води, без дослідного розчину, тобто в 10 разів) та "негативним" контролем (1 см<sup>3</sup> робочої спорової зависі тест-культури музейного штаму розведено у 9 см<sup>3</sup> води, без дослідного розчину та із ністатином, штучно внесеним до поживного середовища).

Перевернуті чашки Петрі розташовували в термостаті, інкубували за температури (25-21)°C і у терміни 3, 5, 7, 10, 14 і 21 доби проводили підрахунок кількості колоній, що вирости.

Після закінчення культивування, в зазначені вище терміни, проводили макроскопічне дослідження культур (визначали зовнішні ознаки колоній грибів, характеристики їх росту, враховували колір, форму, консистенцію колоній, наявність чи відсутність склероціїв, пігменту тощо) та порівнювали з колоніями музейних штамів.

При обчисленні результатів, підраховували всі колонії тест-культур мікроміцетів, що вирости у чашках Петрі. Для визначення середнього результату кількості росту колоній грибів, з використанням ефективних концентрацій наночастинок металів, дослід повторювали не менше трьох разів і кожний раз проводили підрахунок колоній, що вирости. За результатами, що отримали в різні терміни, розраховували показник середньої кількості колоній, виписували варіаційний ряд і визначали медіану.

Середній результат числа колоній грибів, що вирости для кожного терміну і концентрації, визначали шляхом поділу суми всіх колоній на кількість чашок Петрі усіх повторювань за формулою (1):

$$X = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + X_n}{N}, \quad (1)$$

де  $X$  - середня кількість колоній, що вирости в чашках Петрі;

$X_1, X_2, X_3, X_n$  - число колоній в першій, другій, третій чашках і т.д.

$N$  - кількість дослідів (повторювань).

Приклад 1. Визначення фунгіцидних властивостей колоїдних розчинів наночастинок Аргентуму та Купруму щодо музейного штаму тест-культури *Aspergillus fumigatus*

За результатами досліджень встановлено, що відносно проліферативної активності спор музейної тест-культури *Aspergillus fumigatus*, фунгістатичні властивості проявляли NPAg і NPCu у концентрації 150 мкг/см<sup>3</sup> за експозиції 60 хв. і 180 хв. відповідно. Зокрема, середня кількість колоній *Aspergillus fumigatus*, що вирости, у випадку додавання розчину NPAg у концентрації 100 мкг/см<sup>3</sup> та експозиції 60 хв. середній показник колоній грибів склав 22,0, а у 150 мкг/см<sup>3</sup> та 200 мкг/см<sup>3</sup> за металом - 18,0 і 19,0 КУО відповідно проти суцільного росту спор мікроміцетів у "позитивному" контролі.

При додаванні до середовища культивування NPCu у концентрації 150 мкг/см<sup>3</sup> та 200 мкг/см<sup>3</sup> при експозиції 180 хв. середній показник колоній грибів склав 11 та 19 КУО культури відповідно у порівнянні до суцільного росту мікроскопічних грибів у "позитивному" контролі.

Вже на 5-ту добу обліку загальної кількості утворення колоній тест-культур реєстрували фунгіцидні властивості NPAg за концентрації 100, 150 і 200 мкг/см<sup>3</sup> за експозиції 60 хв. щодо культури *Aspergillus fumigatus*.

Приклад 2. Визначення фунгіцидних властивостей композиційної суміші колоїдних розчинів наночастинок Аргентуму та Купруму щодо музейного штаму тест-культури *Aspergillus fumigatus*

Визначення фунгіцидних властивостей композиційної суміші колоїдних розчинів наночастинок Аргентуму та Купруму щодо музейного штаму тест-культури *Aspergillus fumigatus* було проведено на створеній композиції наночастинок (Ag:Cu) у співвідношенні (1:1) та такому

діапазоні концентрацій: I комплекс у співвідношенні (100 мкг/см<sup>3</sup>:100 мкг/см<sup>3</sup>); II комплекс - (150 мкг/см<sup>3</sup>:150 мкг/см<sup>3</sup>); III комплекс - (100 мкг/см<sup>3</sup>:150 мкг/см<sup>3</sup>) і IV комплекс - (150 мкг/см<sup>3</sup>:100 мкг/см<sup>3</sup>) за металом відповідно. Температура витримки становила 18-20 °С та експозиція - 60 і 180 хв.

5 Встановлено, що на проліферативну активність спор культури *Aspergillus fumigatus* вплинули комплекси I, II і IV композицій наносуміші (Ag:Cu) за експозиції 60 хв. та II комплекс композиції - за 180 хв. відповідно - виявляли фунгіцидну дію, тобто забезпечували повну (100 %) затримку росту тест-культури.

10 За підсумком одержаних даних, було вибрано розчини NPAg та NPCu з фунгістатичною дією щодо музейної тест-культури *Aspergillus fumigatus*, як складові композиту наночастинок Аргентуму і Купруму з фунгіцидною дією у аліквотному співвідношенні (1:1) з кінцевою концентрацією 100 мкг/см<sup>3</sup> за кожним металом.

Даний фунгістатичний наноккомплекс Аргентуму та Купруму знайде широке впровадження і ефективно використовувати за контролю ступеня контамінації плісневими грибами.

15

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

20 Фунгістатичний наноккомплекс Аргентуму і Купруму щодо мікроміцетів роду *Aspergillus*, що містить наночастинок біоцидних металів Аргентуму і Купруму, який **відрізняється** тим, що має фунгіцидну дію, яку визначали за умов *in vitro* на моделі стандартизованого за кількістю спор музейного штаму тест-культури *Aspergillus fumigatus* (A.VI.III), та має наступний структурний, якісний та кількісний склад за співвідношенням компонентів, об'єм. %:

колоїдний розчин наночастинок Аргентуму (з вихідною концентрацією 1600,0 мкг/см<sup>3</sup> за металом, середнього розміру (~31,5±0,9) нм) - 0,625;

25 колоїдний розчин наночастинок Купруму (з вихідною концентрацією 2560,0 мкг/см<sup>3</sup>, (~70,0±5,0) нм) - 0,391;

вода дистильована - 98,984.

---

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601