

УДК 633.11:579.23

ФУНГИЦИДНАЯ И БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ХИТОЗАНОВ С РАЗНОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССОЙ И МЕДНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ИХ ОСНОВЕ

© 2022 г. Э. В. Попова^{1, *}, Н. М. Коваленко¹, Н. С. Домнина²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, 196608 Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

*e-mail: elzavropova@mail.ru

Поступила в редакцию 25.08.2021 г.

После доработки 23.11.2021 г.

Принята к публикации 10.01.2022 г.

Изучены антибактериальная и антигрибная активности хитозанов с молекулярной массой (ММ) 5, 10, 50, 150 кДа и степенью деацетилирования 85%, а также медных комплексов, полученных на их основе. Установлено, что активность хитозана зависела от ММ хитозана и его концентрации. Показано, что в пределах концентраций 0.02–0.1% антибактериальная и антигрибная активности медных комплексов не зависели от ММ хитозана и была более высокой по сравнению с хитозаном.

Ключевые слова: хитозан, медные комплексы хитозана, антибактериальная активность, антигрибная активность

DOI: 10.31857/S0555109922030114

Широко распространенный в природе полисахарид хитозан по-прежнему привлекает внимание исследователей благодаря своим уникальным физико-химическим свойствам и биологической активности, а также полной безопасности для окружающей среды [1–4]. В связи с тем, что хитозан получают специальными методами из разнообразных природных источников, то для него характерна структурная неоднородность по многим параметрам [2]. К ним следует отнести молекулярную массу (ММ), количественное соотношение ацетилированных и деацетилированных звеньев в цепи, а также характер их расположения в полимерной цепи. Именно эти особенности хитозана обуславливают многообразие его биологических свойств, что подтверждается многочисленными исследованиями в этой области [5, 6].

Большинство работ, связанных с изучением механизмов антибактериального и антигрибного действия этого биополимера, свидетельствуют о том, что биоцидная активность хитозана связана с его поликатионной структурой и способностью связываться с отрицательно заряженными поверхностными структурами клеток [5, 7]. Механизм проявления такой активности до сих пор не понятен, однако есть четкие доказательства того, что взаимодействие хитозана и его производных с клеточными мембранами на молекулярном уровне приводит к гибели клеток [8–10]. Это так называемый “антибактериальный эффект” хи-

тозана [8]. Первой мишенью действия хитозанового полимера в случае грамотрицательных бактерий становится липополисахарид, который заряжен отрицательно и входит в состав внешней мембраны. У грамположительных бактерий главной мишенью для хитозана могут быть тейхоевые кислоты, отрицательный заряд которым придают многочисленные остатки фосфорной кислоты. В обоих случаях такое взаимодействие нарушает нормальное функционирование обменных процессов клетки с внешней средой, изменяя проницаемость цитоплазматической мембраны, в результате чего усиливается отток веществ из клетки.

Необходимо отметить, что если некоторые авторы выявляют различия в чувствительности грамотрицательных и грамположительных бактерий к хитозану, то в ряде работ делается вывод, что структурные различия клеточной стенки бактерий не являются определяющим при их взаимодействии с полисахаридом [11].

В работе Ильиной с соавт. [12] утверждается, что антибактериальная активность хитозана в отношении грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов может зависеть не только от его молекулярной массы, но и от степени деацетилирования (СД). При тестировании хитозанов с ММ 4 кДа, но с изменяющейся величиной СД (55, 73, 78 и 86%) была установлена тенденция к увеличению уровня гибели клеток по мере уве-

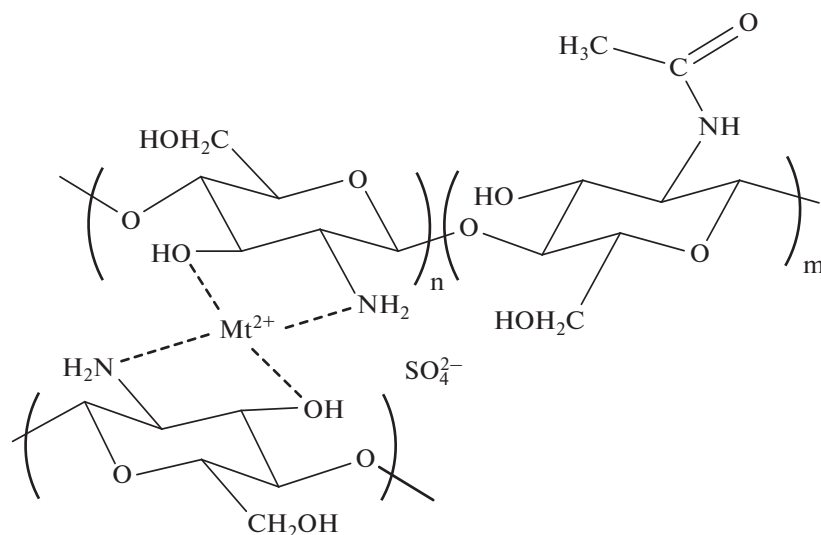


Рис. 1. Структура комплексов хитозан-металл [28].

личения СД полимера. По мнению авторов, высокая концентрация положительных зарядов в цепи хитозана с максимальной СД приводила к образованию наиболее прочной связи с поверхностью клеточной стенки микроорганизмов.

К такому же выводу пришли авторы работы [13] при изучении антибактериальной активности ряда образцов хитозанов, ММ которых изменяли от 2 до 224 кДа и СД с 16 до 84%. Активность образцов оценивали по ингибированию роста и целостности мембран на примере *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*. Авторы пришли к выводу, что хитозаны с высокой СД проявляли повышенную антибактериальную активность [13].

В литературе до сих пор не установлена однозначная корреляция между значением ММ хитозана и его биологическими свойствами [7, 13]. В работе [14] показано, что с увеличением ММ хитозана при воздействии на растущие клетки *Bacillus cereus* антимикробный эффект усиливался в ряду олигосахаридов до образцов с ММ 628 кДа, что объяснялось увеличением количества аминогрупп, способных прочно связываться с поверхностными структурами клетки. Другие исследователи [15] приходят к противоположному выводу – о более высокой антибактериальной активности низкомолекулярных хитозанов. Бицидное действие этих полимеров авторы связывают с тем, что такие образцы обладают большей проникающей способностью через клеточную стенку бактерий, что нарушает их функционирование, влияя на физиологические процессы, происходящие внутри клеток, что влечет за собой гибель клетки. К такому же выводу пришли авторы [16] при изучении бактерий, таких как *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*. Установлено, что чем ниже молекулярная масса хито-

зана, тем выше антибактериальный эффект. Молекулы низкомолекулярного хитозана могут связываться с ДНК, проникая в ядро клетки, подавляя синтез мРНК [6]. Анализ влияния различных факторов на антибактериальную активность хитозана представлен в последних обзорах [7, 17].

К настоящему времени установлено, что хитозан имеет прямое фунгистатическое действие, которое зависит от его физико-химических свойств, а также вида микроорганизма [18]. К хитозану чувствительны грибы и оомицеты, содержащие незначительное количество хитозана в клеточных стенках, а зигомицеты, содержащие большое количество хитозана в клеточных стенках, устойчивы к его воздействию. Энтомопатогенные грибы, обладающие высокой хитинолитической активностью, устойчивы к действию хитозана.

Противоречивые данные относительно корреляции между противогрибковой активностью и молекулярной массой хитозана также получены в ряде работ [17, 19–21]. Результаты исследования процесса ингибирования хитозаном десяти растительных патогенных грибов: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, *Colletotrichum capsici*, *Pythium aphanidermatum*, *Phytophthora parasitica*, *Curvularia lunata*, *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium oryzae*, *Sphaceloma ampelinum* и *Fusarium graminearum* показали, что полимеры с низкой ММ обладали более высокой степенью ингибирования мицелия, чем высокомолекулярные хитозаны [17, 21]. В работе [19], наоборот, установлено, что с увеличением молекулярной массы растет и антигрибная активность против *Candida albicans*, *Candida krusei* и *Candida glabrata*.

Необходимо добавить, что и вид микроорганизма также определяет их восприимчивость к хитозану с разной молекулярной массой, что по-

казано в работе [20]. Грибы *Puccinia asparagi* и *Fusarium oxysporum* оказались чувствительнее к хитозану с низкой молекулярной массой, тогда как против *Stemphylium solani* более эффективен был хитозан с высокой молекулярной массой.

Также важным фактором проявления противогрибковой активности является степень деацетилирования хитозана: с увеличением СД возрастает и антигрибная активность [22]. Варьирование двух характеристик хитозана (СД и ММ) позволяет найти комбинацию, приводящую к максимальному результату по этому параметру. Вывод, что антигрибная активность больше при высоком значении СД и низкой величине ММ был подтвержден на различных видах патогенов: *Candida albicans* [22], *Aspergillus fumigatus* [23] и *Aspergillus flavus* [24].

Механизм антигрибного действия хитозана по аналогии с бактериями связывают с нарушением структуры клеточной стенки, ведущим к изменению морфологии мицелия, жизнеспособности спор, нарушению целостности грибной цитоплазматической мембраны, что приводит к выходу из клеток цитоплазматического содержимого. Электростатическое взаимодействие положительно заряженных свободных аминогрупп хитозана с отрицательно заряженными фосфолипидами мембран клеток грибов подтверждается его зависимостью от рН, различного для низко- и высокоацетилированного хитозана с одинаковой молекулярной массой и концентрацией в среде [18–24]. В связи с этим хитозаны с большей СД (86–90%) во всех случаях проявляли более сильное фунгистатическое действие. Этот параметр играет решающую роль в адгезии хитозана к клеткам мицелия и спор грибов. Таким образом, можно считать установленным, что любая биологическая активность хитозана в первую очередь определяется наличием положительного заряда на его макромолекулах.

В последние два десятилетия многие исследования были направлены на повышение активности хитозана за счет увеличения плотности положительного заряда, за счет введения в его состав биологически активных веществ, целенаправленно усиливающих его биоцидную активность. С этой точки зрения большой интерес представляет способность хитозана образовывать комплексы с различными металлами, которые, с одной стороны, сами обладают биоцидной активностью и, с другой стороны, могут использоваться растениями в качестве катализаторов биохимических процессов. В последнее время наиболее распространенной стратегией повышения антимикробных свойств хитозана является его использование в сочетании с металлами и их наночастицами [25–27].

Ранее нами [28] были получены комплексы хитозана (ММ = 3–150 кДа) с металлами (Cu, Zn, Fe), показывающие высокую антигрибную ак-

тивность в отношении *F. oxysporum*. Наиболее активными оказались комплексы хитозана с медью.

Цель работы – сравнительное изучение антибактериальной и антигрибной активностей хитозанов с СД 85% и разной ММ, а также медных комплексов, полученных на их основе.

МЕТОДИКА

Методом окислительной деструкции [29] высокомолекулярного хитозана Хит-150 (ММ = 150 кДа, СД = 85%) получено 3 образца с ММ 5, 10 и 50 кДа, соответственно Хит-5, Хит-10, Хит-50. Значение СД, определенное для всех образцов методом потенциометрического титрования [30], составляло 85%.

На основе полученных образцов синтезированы комплексы хитозана с медью (Хит + Cu), как описано в работе [28]. Для этого 0.5 г хитозана растворяли в 100 мл 4%-ной уксусной кислоты, вносили 0.77 г $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, добавляли раствор щелочи (10%-ный KOH), доводя рН до 5.6. Смесь перемешивали при 20°C в течение 3 ч, затем продукт осаждали ацетоном, центрифугировали, промывали этанолом, фильтровали и высушивали в вакууме. Выход комплекса составлял 60–80% в зависимости от ММ хитозана.

Содержание меди в предварительно минерализованных образцах комплексов хитозана определяли фотометрически на приборе “UV-2600 Shimadzu” (Япония) по известной методике, использованной ранее в работе [28], основанной на взаимодействии ионов Cu с органическим реагентом (пикрамин-эпсилон) с образованием окрашенного комплексного соединения. ИК-спектры хитозана и его комплексов снимали на Фурье-спектрометре “Spectrum BX” (“Perkin Elmer Inc.”, США) в таблетках с KBr.

Получены и испытаны следующие образцы: хитозаны (Хит-5; Хит-10; Хит-50; Хит-150) и медные комплексы на их основе (Хит-5 + Cu; Хит-10 + Cu; Хит-50 + Cu; Хит-150 + Cu).

Во всех экспериментах по оценке биологической активности хитозанов и их комплексов для растворения была использована 0.1%-ная янтарная кислота, не обладающая антимикробной активностью.

Антибактериальную активность образцов хитозана оценивали по их способности подавлять рост культур бактерий, вызывающих заболевания сельскохозяйственных культур: *Bacillus polymyxa* (Prazmowski 1880) Mace 1989 – бактериальная гниль клубней картофеля; *Pseudomonas syringae syringae pv tomato* – пятнистость томата; *Erwinia carotovora* (syn. *Pectobacterium carotovorum*) – вызывает болезни картофеля и др. растений, называемые “черная ножка”.

Тест-культуры получены из коллекций типовых культур ВНИИСХМ и лаборатории микробиометода ВИЗР (Россия). Оценку антимикробной активности образцов хитозана проводили методом диффузии в агар (метод лунок) раствора испытуемого соединения [31]. Метод основан на сравнении ингибирования роста тест-микроорганизма испытуемым раствором хитозана по отношению к контролю (дистиллированная вода) и определении биологической активности по зоне ингибирования роста тест-микроорганизма (радиус зоны ингибирования роста тест-организма в мм).

В стерильные чашки Петри разливали охлажденный до 45°C картофельно-глюкозный агар. После застывания на поверхность агара наносили 0.2 мл суспензии испытуемых бактерий с титром 10^6 КОЕ/мл. После посева агара чашки оставляли на 1–2 ч для впитывания инокулюма. Затем на поверхности агара стерильным сверлом делали лунки диаметром 6 мм. В лунки каждой чашки одновременно вносили по 0.2 мл раствора испытуемых образцов в концентрации 0.2% и раствора стандарта. В качестве стандарта служил 0.1%-ный раствор янтарной кислоты. После этого чашки оставляли в течение 1–2 ч при комнатной температуре, а затем помещали в термостат и выдерживали при 25°C в течение 48 ч. Для каждого рабочего раствора измеряли зоны ингибирования роста тест-штамма микроорганизмов в мм (радиус).

Изучение антигрибной активности препаратов проводили методом агаровых блоков [32]. В качестве тест-культур использовали *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) f. sp. *lycopersici* (Sacc.), вызывающего фузариозное увядание томата, *Sclerotinia sclerotiorum*, вызывающего белую гниль огурцов, томата и др. культур, а также *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastu – возбудителя темно бурой пятнистости пшеницы. При тестировании методом блоков в теплую агаризованную среду Чапека вносили растворы испытуемых образцов хитозана и медных комплексов на его основе, рассчитывая конечную концентрацию в среде. После застывания среды на ее поверхности устанавливали агаровые блоки 7-суточной тест-культуры, вырезанные стерильным пробочным сверлом, затем чашки Петри помещали в термостат при 22–25°C. Фунгистатическую активность оценивали по диаметру подавления роста тест-культуры на 5 сут выращивания. Контролем служили чашки со средой Чапека без испытуемых веществ.

Влияние хитозановых образцов на прорастание конидий *C. sativus* проводили также в капле (200 мкл) на предметных стеклах, в темноте при 22°C, во влажной камере в течение 24, 48 и 72 ч. К 0.1 мл 0.05%-ного раствора образца добавляли 0.1 мл суспензии спор аскомицета (10^4). Прорастание конидий оценивали микроскопированием, про-

сматривая не менее 100–200 спор в варианте опыта и в контроле (в воде). Частоту прорастания выражали в процентах от общего числа спор, просмотренных в контроле и опыте [33].

Все опыты проводили в 3-кратной повторности, полученные данные обрабатывали с использованием методов описательной статистики (на основе стандартных ошибок средних \pm SEM). Наименьшая существенная разница (НСР) использовалась для сравнения средних значений при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что благодаря наличию функциональных групп хитозан является хорошим хелатирующим агентом и легко образует комплексы с ионами металлов с переменной валентностью [34]. Для доказательства образования и подтверждения структуры комплексов хитозан-металл, как правило, используют спектральные методы [35].

Ранее было показано [28], что в результате координации между металлом (Cu) и аминными группами хитозана в ИК-спектрах наблюдалось смещение максимумов поглощения валентных и деформационных колебаний NH-связей в сторону низких частот и появлялся максимум при 1560 см^{-1} , обусловленный деформационными колебаниями NH-связей в аминных группах хитозана, связанных с металлом. На основании этих данных была предложена структура комплексов хитозан-металл, подтвержденная в последующем другими исследователями [6].

Содержание меди в комплексах, рассчитанное в максимуме поглощения при 551 нм, составило $10 \pm 1\%$, что соответствует мольному соотношению медь : хитозан – 1 : 4.

Известно, что механизм действия хитозанов на микроорганизмы связан с нарушением целостности наружной мембраны [5, 10].

С учетом разного строения клеточных стенок бактерий для испытания прямой антибактериальной активности были взяты грамотрицательные (*P. syringae*, *E. carotovora*) и одна грамположительная (*B. polymyxa*) бактерии.

В табл. 1 приведены экспериментальные данные по антигрибной и антибактериальной активности хитозанов и медных комплексов, полученных на их основе.

Следует отметить, что большинство исследователей при изучении антибактериальной и антигрибной активности хитозана в качестве растворителя используют 0.2%-ную соляную или уксусную кислоты [36], которые сами по себе обладают антимикробной активностью. В данной работе для растворения образцов хитозанов использовали водный раствор янтарной кислоты, не влияющую на линейный рост тест-культур (см. табл. 1). Показано, что все образцы хитозана обладали высо-

Таблица 1. Антигрибная и антибактериальная активности образцов хитозанов и соответствующих комплексов с медью (концентрация 0.2%)

Образец	Ингибирование роста мицелия на 5 сут, %		Диаметр зоны отсутствия роста тест-культур, мм		
	<i>F. oxysporum</i>	<i>S. sclerotiorum</i>	Грам (–)		Грам (+)
			<i>P. syringae</i>	<i>E. carotovora</i>	<i>B. polymyxa</i>
Хит-5	79.6	82.2	0.80	1.5	1.5
Хит-10	83.1	83.3	1.0	1.5	1.5
Хит-50	82.3	82.2	1.5	1.8	1.7
Хит-150	79.1	66.6	0.5	0.7	0.7
Хит-5 + Cu	85.7	83.3	2.5	2.0	1.8
Хит-10 + Cu	87.5	86.6	2.0	2.0	1.5
Хит-50 + Cu	87.5	83.5	3.0	3.3	3.5
Хит-150 + Cu	85.0	78.9	2.5	3.0	2.5
0.1%-ный водный раствор янтарной кислоты	0	0	0	0	0
НСР* ($p < 0.05$)	2.2	2.0	0.05	0.1	0.15

* НСР – наименьшая существенная разница для сравнения средних значений при $p < 0.05$.

кой антигрибной активностью, сдерживая рост мицелия гриба *F. oxysporum* на 79.1–83.1%, а *S. sclerotiorum* на 66.6–83.3%. Например, на 5 сут культивирования антигрибная активность хитозанов с ММ 5–50 кДа практически не менялась по отношению к грибу *S. sclerotiorum*, а с увеличением ММ хитозана до 150 кДа снижалась до 66.6%. Как и ожидалось, медные комплексы хитозанов обладали более высокой степенью ингибирования роста мицелия грибов по сравнению с хитозанами.

Из табл. 1 видно, что все образцы хитозана с ММ от 5 до 150 кДа обладали антибактериальной активностью, как по отношению к грамположительным, так грамотрицательным бактериям. Менее чувствительным к действию хитозанов оказался штамм *Pseudomonas syringae*, что, скорее всего, связано с его особенностями.

Модельный опыт по оценке действия хитозана Хит-5 на прорастание конидий *C. sativus* показал, что при концентрации 0.05% на вторые сутки достигался 50%-ный ингибирующий эффект, который постепенно повышался по мере увеличения концентрации полимера (табл. 2).

Результаты оценки антигрибной активности хитозана с разной молекулярной массой в отношении *C. sativus* представлены в табл. 3. Отмечена следующая тенденция: чем меньше ММ, тем в большей степени выражена противогрибковая активность. Закономерным является рост антигрибной активности по мере увеличения концентрации образца. Например, радиальный рост *C. sativus* подавлялся от 58.7 до 68.6% на 5 сут инкубации при увеличении концентрации хитозана Хит-5 с 0.05 до 0.1%. При более низкой концентрации (0.02%) хитозан мог ингибировать только 48.0% радиального роста мицелия гриба на 5 сут инкубации.

Введение меди с образованием комплекса значительно повышало биоцидную активность по сравнению с активностью исходного хитозана, что связано с увеличением положительного заряда хитозана в присутствие ионов металлов. Кроме того, это повышало способность поликаатиона адсорбироваться на отрицательно заряженной поверхности клетки микроба. Из результатов, представленных в табл. 3 видно, что медные комплексы хитозана независимо от его исходных характеристик проявляли высокую антигрибную активность, подавляя рост мицелия гриба *C. sativus* на 85.8–88.6% при концентрации 0.1%. Повышенная антигрибная активность комплексов сохранялась при применении их и в меньших концентрациях. В пределах концентраций 0.02–0.1% биоцидная активность комплексов практически не зависела от величины ММ исходного хитозана. Эта же закономерность выявлена в опыте по оценке влия-

Таблица 2. Влияние концентрации хитозана с молекулярной массой 5 кДа (Хит-5) на прорастание конидий *C. sativus* на 2 и 3 сут

Концентрация хитозана, %	Количество проросших конидий <i>C. sativus</i> , %	
	2 сут	3 сут
Контроль (без хитозана)	85	100
0.02	60	80
0.05	55	80
0.1	45	85
0.2	15	70
0.5	10	65
НСР ($p < 0.05$)	3.2	3.5

Таблица 3. Влияние концентрации образцов хитозана (%) и соответствующих медных комплексов на подавление роста мицелия на 5 сут и прорастание конидий *C. sativus* на 2 сут

Образец	Подавление роста мицелия, %			Количество проросших конидий, на 2 сут, % от контроля*
	концентрация образца, %			
	0.1	0.05	0.02	0.05
Хит-5	68.6	58.7	48.0	70
Хит-10	71.1	55.0	46.2	75
Хит-50	64.3	47.5	43.7	70
Хит-150	61.1	45.3	40.0	70
Хит-5+ Cu	88.6	84.0	70.0	10
Хит-10+ Cu	86.1	83.0	71.1	7
Хит-50+ Cu	85.8	85.2	73.7	5
Хит-150+ Cu	88.0	86.0	75.0	5
НСР ($p < 0.05$)	2.3	1.8	2.0	4.6

* Контроль 100%.

Таблица 4. Действие хитозанов и их медных комплексов на прорастание конидий *C. sativus* (концентрация образцов 0.05%)

Образец	Количество проросших конидий <i>C. sativus</i> , %		
	1 сут	2 сут	3 сут
Контроль	60	90	100
Хит-5	10	60	70
Хит-10	15	70	75
Хит-50	10	65	70
Хит-150	15	60	70
Хит-5+ Cu	0	0	10
Хит-10+ Cu	0	0	7
Хит-50+ Cu	0	0	5
Хит-150+ Cu	0	0	5
НСР ($p < 0.05$)	1.5	2.8	3.3

ния испытуемых образцов (0.05%) на прорастание конидий гриба *C. sativus*.

Установлено, что при использовании образцов хитозана в концентрации 0.05% разница в ингибировании прорастания конидий *C. sativus* определялась временем экспозиции, но не величиной ММ полимера (табл. 4). При этом из данных табл. 4 видно, что медный комплекс на основе хитозана Хит-5 полностью подавлял прорастание конидий гриба *C. sativus* в течение 2 сут и приводил к значительному снижению количества проросших спор аскомицета (до 10%) по сравнению с контролем (100%) на 3 сут инкубации.

В результате проведенных исследований получены оригинальные данные, которые позволили выявить общие закономерности в проявлении биологической активности хитозанов с разной молекулярной массой, но с одинаковой СД (85%), а также их медных комплексов на всех тест-объектах. Так, с увеличением ММ от 5 до 50 кДа анти-

микробная и антибактериальная активности увеличивались, а затем наблюдалась тенденция к их снижению. Включение в хитозан меди с образованием хелатного комплекса (Хит + Cu) способствовало повышению биологической активности независимо от величины ММ и типа микроорганизма. Это открывает возможность успешного использования комплексов хитозана с медью в сельскохозяйственной практике против широкого круга возбудителей болезней растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *El Hardrami A., Adam L. R., El Hadrami I., Daayf F // Marine Drugs.* 2010. V. 8. № 4. P. 968–987.
2. *Хитозан.* / Ред. К.Г. Скрябин, С.Н. Михайлов, В.П. Варламов. М.: Центр “Биоинженерия” РАН, 2013. 593 с.
3. *Kabanov V.L., Novinyuk L.V. // Food Syst.* 2020. № 3. P. 10–15.

4. Wang W., Xue C., Mao X. // *Int. J. Biol. Macromol.* 2020. V. 164. P. 4532–4546.
5. Варламов В.П., Ильина А.В., Шагдарова Б.Ц., Луньков А.П., Мысякина И.С. // *Успехи биологической химии.* 2020. Т. 60. С. 317–368.
6. Ardean C., Davidescu C.M., Nemes N.S., Negrea A., Ciopres M., Duteanu N., Negrea P. Duda-Seiman D., Mustafa V. // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 14. P. 7449.
7. Jianhui Li., Shaoling Z. // *European Polymer Journal.* 2020. V. 138. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109984>
8. Hosseinnejad M., Jafari S.M. // *Int. J. Biol. Macromol.* 2016. V. 85. P. 467–475.
9. Verlee A., Mincke S., Stevens C.V. // *Carbohydr. Polym.* 2017. V. 164. P. 268–283.
10. Matica M.A., Aachmann F.L., Tøndervik A., Sletta H., Ostafe V. // *Int. J. Mol. Sci.* 2019.V. 20. P. 5889. <https://doi.org/10.3390/ijms20235889>
11. Kong M., Chen X.G., Xing K., Park H.J. // *Int. J. Food Microbiology.* 2010. V. 144. P. 51–63.
12. Ильина А.В., Варламов В.П. // *Прикл. биохимия и микробиология.* 2003. Т. 39. № 3. С. 273–277.
13. Mellegård H., Strand S.P., Christensen B.E., Granum P.E., Hardy S.P. // *Int. J. Food Microbiol.* 2011. V. 148. P. 48–54.
14. Fernandes J.C., Eaton P., Gomes A.M., Pimtdo M.E., Xavier Malcata F. // *Ultramicroscopy.* 2009. V. 109. № 8. P. 854–860.
15. Kumar A.B.V., Varadaraj M.C., Tharanathan R.N. // *Biomacromolecules.* 2007. V. 2. № 2. P. 566–572.
16. Hafdani F., Sadeghinia N. // *World Acad. Sci., Engineering and Technology. International Journal of Pharmacological and Pharmaceutical Sciences.* 2011. V. 5. № 2. P. 46–50.
17. Attjioui M., Gillet D., El Gueddari N.E., Moerschbacher B.M. // *MPMI.* 2021. V. 34. № 7. P. 770–778.
18. Matica A., Menghiu G., Ostafe V. // *New Front. Chem.* 2017. V. 26. № 1. P. 55–63.
19. Seyfarth F., Schliemann S., Elsner P., Hipler U.C. // *Int. J. Pharm.* 2008. V. 353. № 1–2. P. 139–148.
20. Li R., Guo Z., Jiang P. // *Carbohydrate Research.* 2010. № 345. P. 1896–1900.
21. Singburadom N., Piasai O., Dethaub T. // *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 2011. V. 45. P. 644–655.
22. Hongpattarakere T., Riyaphan O. // *J. Sci. Technol.* 2008. № 30. P. 1–9.
23. Cé R., Marchi J.G., Bergamo V.Z., Fuentesfria A.M., Lavayen V., Guterres S.S., Pohlmann A.R. // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.* 2016. № 511. P. 153–161.
24. de Oliveira Pedro R., Takaki M., Gorayeb T.C.C., Bianchi V.L.D., Thomeo J.C., Tiera M.J., de Oliveira Tiera V.A. // *Microbiol. Res.* 2013. V. 168. № 1. P. 50–55.
25. Swati Choudhary M.K., Joshi A., Saharan V. // *Int. J. Current Microbiol. Appl. Sci.* 2017. V. 6. № 11. P. 1335–1350.
26. Al-Dhabaan F.A., Shoala. Ali A.A.M., Alaa M., Abd-El-salam K. // *Int. J. Agric. Technol.* 2017 V. 13. № 5. P. 753–769.
27. Gritsch L., Lovell C., Goldmann W., Boccaccini A. // *Carbohydr. Polym.* 2018. V. 179. P. 370–378.
28. Власов П.С., Киселев А.А., Домнина Н.С., Попова Э.В., Тютерев С.Л. // *Журн. прикладной химии.* 2009. Т. 82. № 9. С. 1571–1575.
29. Muzzarelli Riccardo, A.A. *Chitin.* Oxford: Pergamon Press, 1977. 309 p.
30. Kong X. // *Carbohydr. Polym.* 2012. № 88. P. 336–341.
31. Кулешова С.И. // *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения* 2015. № 3. С. 13–17.
32. *Методические рекомендации по испытанию химических веществ на фунгицидную активность.* / Ред. Е.И. Андреева, В.С. Картомышев. НИИТЭХИМ, 1990. С. 4–5.
33. Palma-Guerrero J., Jansson H.-B., Salinas J., Lopez-Llorea L.V. // *J. Appl. Microbiol.* 2008. V. 104. № 2. P. 541–53.
34. Divya K., Vijayan S., George T.K., Jisha M.S. // *Fibers Polim.* 2017. V. 18. № 2. P. 221–230.
35. Курек Д.В. В Хитозан. / Ред. К.Г. Скрябин, С.Н. Михайлов, В.П. Варламов. М.: Центр “Биоинженерия” РАН, 2013. С. 61–70.
36. Abdeltwab W.M., Abdelalim Y.F., Metry W.A., Eldeggedy M. // *J. Adv. Lab. Res. Biol.* 2019. V. 10. № 1. P. 8–15.

Fungicidal and Bactericidal Activity of Chitosans with Different Molecular Weights and Copper Complexes Based on Them

E. V. Popova^{a,*}, N. M. Kovalenko^a, and N. S. Domnina^b

^a All-Russian Institute for Plant Protection, St.-Petersburg-Pushkin, 196608 Russia

^b St. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034 Russia

*e-mail: elzavpopova@mail.ru

This work is devoted to the study of the antibacterial and antifungal activity of chitosans with deacetylation degree 85% and molecular weight (MW) in a wide range of values (5, 10, 50, 150 kDa) and copper complexes obtained on their basis. It was found that the studied activity of chitosan has a certain dependence on MW of chitosan and its concentration. It has been shown that within the concentration range of 0.02–0.1%, the bio-cidal activity of copper complexes does not depend on MW of chitosan, but at the same time they are characterized by a higher antibacterial and antifungal activity compared to chitosan.

Keywords: chitosan, copper complexes of chitosan, bactericidal activity, antifungal activity