

Научная статья

УДК 541.145:546.824.31

doi:10.37614/2949-1215.2023.14.3.006

ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКАЯ ИНАКТИВАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ В ПРИСУТСТВИИ КОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ ДИОКСИДА ТИТАНА ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ВИДИМЫМ СВЕТОМ

**Максим Леонидович Беликов¹, Надежда Викторовна Фокина², Анастасия Сергеевна Сошина³,
Сергей Александрович Сафарян⁴**

^{1,4}Институт химии и технологии редких элементов и минерального сырья имени И.В. Тананаева
Кольского научного центра РАН, г. Апатиты, Россия

^{2,3}Институт проблем промышленной экологии Кольского научного центра РАН, г. Апатиты, Россия

¹m.belikov@ksc.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5585-0537>

²nadezdavf@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2936-5252>

³anastasiya.soshina97@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4173-6992>

⁴s.safarian@ksc.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0838-9909>

Аннотация

Приведены результаты исследований фотокаталитической инактивации грамотрицательных (*Pseudomonas fluorescens*) и грамположительных (рода *Micrococcus* sp.) бактерий в присутствии фотокатализаторов (ФК) на основе диоксида титана, модифицированного катионными примесями (W), при облучении видимым светом естественного или искусственного происхождения.

Ключевые слова:

диоксид титана, вольфрам, фотокатализ, инактивация, грамотрицательные и грамположительные бактерии, видимый свет

Для цитирования:

Фотокаталитическая инактивация бактериальной микрофлоры в присутствии композитов на основе диоксида титана при облучении видимым светом / М. Л. Беликов, Н. В. Фокина, А. С. Сошина, С. А. Сафарян // Труды Кольского научного центра РАН. Серия: Технические науки. 2023. Т. 14, № 3. С. 38–43. doi:10.37614/2949-1215.2023.14.3.006.

Original article

PHOTOCATALYTIC INACTIVATION OF BACTERIAL MICROFLORA IN PRESENCE OF TITANIUM DIOXIDE-BASED COMPOSITES WHEN IRRADIATED WITH VISIBLE LIGHT

Maxim L. Belikov¹, Nadezhda V. Fokina², Anastasia S. Soshina³, Sergey A. Safaryan⁴

^{1,4}I. V. Tananaev Institute of Chemistry and Technology of Rare Elements and Mineral Raw Materials
of the Kola Science Centre of the RAS, Apatity, Russia

^{2,3}Institute of Industrial Ecology Problems of the Kola Science Centre of the RAS, Apatity, Russia

¹m.belikov@ksc.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5585-0537>

²nadezdavf@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2936-5252>

³anastasiya.soshina97@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4173-6992>

⁴s.safarian@ksc.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0838-9909>

Abstract

The paper presents the results of studies of photocatalytic inactivation of gram-negative (*Pseudomonas fluorescens*) and gram-positive (*Micrococcus* sp.) bacteria in the presence of photocatalysts based on titanium dioxide modified with cationic impurities (W) when irradiated with visible light of natural or artificial origin.

Keywords:

titanium dioxide, tungsten, photocatalysis, inactivation, gram-negative and gram-positive bacteria, visible light

For citation:

Photocatalytic inactivation of bacterial microflora in presence of titanium dioxide-based composites when irradiated with visible light / M. L. Belikov, N. V. Fokina, A. S. Soshina, S. A. Safaryan // Transactions of the Kola Science Centre of RAS. Series: Engineering Sciences. 2023. Vol. 14, No. 3. P. 38–43. doi:10.37614/2949-1215.2023.14.3.006.

Введение

В более ранних работах авторами была показана высокая фотокаталитическая активность (ФКА) ряда синтезированных фотокатализаторов на основе диоксида титана, модифицированного

различными катионными примесями, в процессах деструкции различных органических соединений при облучении видимым светом [1–8].

Цель данной работы состоит в том, чтобы показать возможность использования разработанных ФК в процессах фотокаталитической инактивации грамотрицательных (*Pseudomonas fluorescens*) и грамположительных (*Micrococcus* sp.) бактерий при облучении видимым светом.

Материалы и методы

В качестве ФК в процессах фотокаталитической инактивации бактериальной микрофлоры применялись образцы диоксида титана, модифицированного вольфрамом, прокаленные при температуре 600 °С, так как ранее [7] авторами было показано, что эти фотокатализаторы проявляют наибольшую ФКА при деструкции различных органических веществ.

В качестве бактериальных клеток использовали грамотрицательные бактерии *Pseudomonas fluorescens*, грамположительные бактерии *Micrococcus* sp., полученные из лабораторного фонда лаборатории экологии микроорганизмов Института проблем промышленной экологии Севера (ИППЭС КНЦ РАН).

Предварительная проверка ФК на микробную обсемененность показала, что они не содержат жизнеспособных культивируемых клеток микроорганизмов.

Эффективность фотокатализаторов оценивали по степени ингибирования роста бактериальных клеток при облучении бактериальной суспензии, содержащей ФК, видимым светом ($\lambda > 400$ нм). Эксперименты проводились при комнатной температуре. Навеску ФК помещали в стеклянную пробирку, содержащую 19 мл физраствора, затем вносили 1 мл бактериальной суспензии. Изменение численности бактерий после контакта с ФК и облучения светом фиксировали с помощью посева бактериальной суспензии на плотную питательную среду — мясопептонный агар в чашках Петри. Посев проводили через определенные промежутки времени. Колонии бактерий подсчитывали после инкубации при 27 °С в течение 72 ч по формуле [9]

$$N = M \cdot P / V, \quad (1)$$

где N — КОЕ в 1 мл исходного инокулята; P — разведение, из которого сделан высеv; $P = 10^n$ (10 — коэффициент разведения, n — порядковый номер разведения); M — среднее количество КОЕ, выросших на чашке Петри, в разведении P ; V — объем инокулята, взятого для посева в чашку Петри из разведения P .

Антибактериальную активность фотокатализаторов рассчитывали по формуле [10]

$$AA = \log (N_0 / N_1), \quad (2)$$

где AA — антибактериальная активность; N_0 — исходная численность бактериальных клеток (КОЕ/мл); N_1 — численность бактериальных клеток (КОЕ/мл) после контакта с ФК.

Образцами сравнения служили: TiO_2 аналогичного с модифицированным вольфрамом TiO_2 генезиса и промышленный TiO_2 фирмы Degussa (P-25), предложенный ранее в качестве стандарта сравнения [11].

Маркировка образцов модифицированного диоксида титана, например 600-W-5, содержит данные о температуре термообработки (600 °С), модифицирующем металле (W) и его содержании в продукте (5 мас. %).

Результаты исследований

В табл. 1 показано, как изменяется численность грамотрицательных бактериальных клеток *Pseudomonas fluorescens* при облучении видимым светом искусственного происхождения ($E = 4300$ лк) в присутствии различных фотокатализаторов, концентрация которых для всех образцов составляла 10 мг/мл.

Таблица 1

Изменение численности бактериальных клеток (*Pseudomonas fluorescens*) в зависимости от времени облучения в присутствии различных ФК (10 мг/мл)

Образец	Численность бактериальных клеток, $\times 10^7$ кл/мл	
	Исходная	Через 24 часа
Контроль	6,3	361
P-25	2,1	132
TiO ₂	1,5	130
600-W-5	1,8	102
600-W-20	1,4	0
600-W-30	1,2	0,4

Из табл. 1 видно, что использование в качестве фотокатализаторов коммерческого P-25, чистого TiO₂ и образца 600-W-5 не приводит к ингибированию и деструкции бактерий *Pseudomonas fluorescens*. Применение образцов 600-W-20 и 600-W-30 приводит к существенному как ингибированию роста бактерий, так и к их сокращению. Через 24 ч облучения бактериальной суспензии в присутствии 600-W-20 колониеобразующих бактериальных клеток не обнаруживается.

Исследована кинетика фотокаталитической инактивации бактериальных клеток с использованием образца 600-W-20 при облучении светом естественного происхождения

($E = 14\,500$ лк), итоги представлены на рис. 1.

Видно, что в первые 45 мин облучения бактериальной суспензии численность бактериальных клеток снижается на 5 порядков, а спустя 120 мин колониеобразующих бактериальных клеток при концентрации ФК 10 мг/мл не обнаруживается.

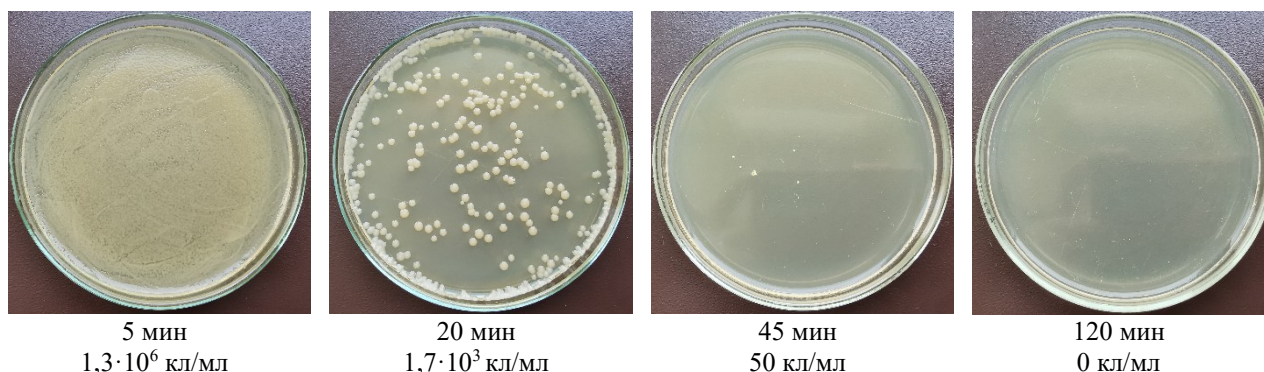


Рис. 1. Изображения колоний *Pseudomonas fluorescens* на чашке с агаром после облучения видимым светом ($E = 14\,500$ лк) в присутствии ФК 600-W-20 (10 мг/мл). Исходная численность бактерий $2,0 \cdot 10^6$ кл/мл

Была изучена антибактериальная активность ФК (600-W-20) по отношению к *Pseudomonas fluorescens*, показано, что она существенно зависит от степени освещенности (рис. 2).

С увеличением степени освещенности антибактериальная активность фотокатализаторов увеличивается. При нулевой освещенности фотокатализатор в первые 90 мин проявляет некоторую антибактериальную активность, которая затухает при его и бактерий дальнейшем контакте. Подобное наблюдалось и в других работах [12, 13] по изучению фотокаталитической деструкции бактериальных клеток с помощью ФК. Авторы настоящей работы считают, что в первые десятки минут это может быть связано с так называемым фактором предварительной активации ФК светом на воздухе при хранении в стеклянных сосудах, а также проникновением инфракрасного излучения, например, от встряхивающего устройства, при работе которого образуется теплота. Так, в работе [3] авторами показана высокая ФКА W-модифицированного диоксида титана в процессах разложения красителей при облучении светом с длиной волны более 900 нм.

Ранее было показано [14], что разработанные нами ФК, в частности образцы 600-W-10 и 600-Fe-5, также приводят к существенной фотокаталитической инактивации грамотрицательных бактерий еще одного вида рода *Pseudomonas* (*Pseudomonas alcaliphila*), однако образец 600-Fe-5 уступает образцу 600-W-10. В табл. 2 и на рис. 3 показано изменение численности грамположительных бактериальных клеток рода *Micrococcus* sp.

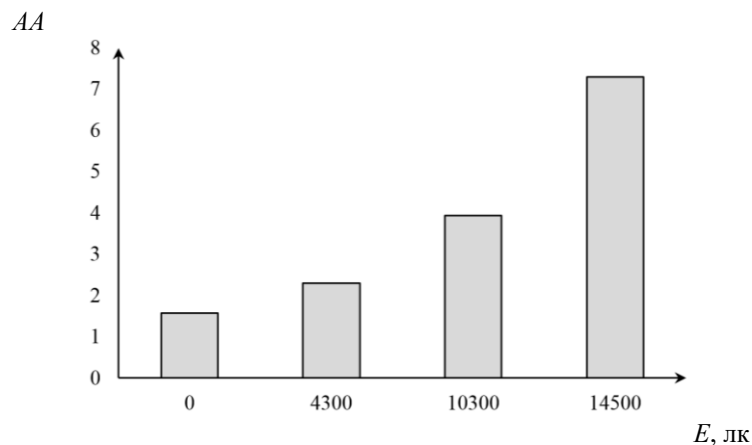


Рис. 2. Зависимость антибактериальной активности (АА) ФК (10 мг/мл) от степени освещенности. Продолжительность облучения 3 ч

Таблица 2

Изменение численности бактерий (*Micrococcus* sp.)
в зависимости от времени облучения в присутствии ФК (5 мг/мл)

Образец	Численность бактериальных клеток, $\times 10^4$ кл/мл			
	Исходная	Через 3 ч	Через 6 ч	Через 24 ч
TiO ₂	2,5	0,4	0,17	0,01
600-W-5	2,5	0,1	0,025	0,006
600-W-10	160	1,1	0,074	0,013
600-W-20	160	1.8	0.11	0

Из табл. 2 видно, что фотокаталитическая инактивация и деструкция грамположительных бактерий рода *Micrococcus* sp., в отличие от грамотрицательных бактерий *Pseudomonas fluorescens*, наблюдается не только при использовании в качестве фотокатализаторов образцов 600-W-20, но и при использовании чистого TiO₂ и образца 600-W-5, что, по-видимому, связано не только с различиями в строении клеточных стенок и их химическим составом, но и с более высокой степенью освещенности при облучении естественным видимым светом.

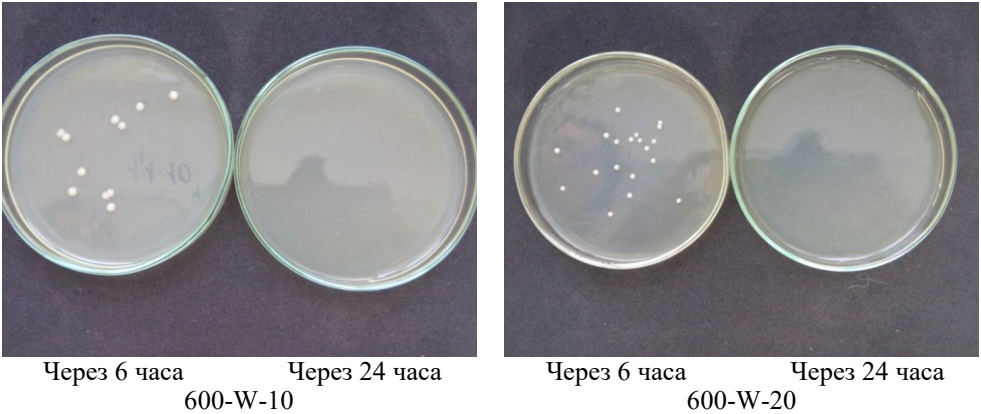


Рис. 3. Изображения колоний *Micrococcus* sp. на чашке Петри с агаром после облучения видимым светом ($E = 14000$ лк) в присутствии ФК 600-W-10 и 600-W-20 (5 мг/мл). Исходная численность бактерий $1,6 \cdot 10^6$ кл/мл (изображение представляет собой сплошной бактериальный ковер)

На рис. 3 наглядно показано изменение численности бактериальных клеток через 6 и 24 ч облучения бактериальной суспензии в присутствии ФК. Спустя 24 ч практически во всех случаях

количество бактерий стремится к нулю. При использовании образца 600-W-20 колониеобразующих клеток, как и в случае с бактериями *Pseudomonas fluorescens* (см. табл. 1), не обнаруживается.

Выводы

Показана возможность фотокаталитической инактивации грамотрицательных (*Pseudomonas fluorescens*) и грамположительных (рода *Micrococcus* sp.) бактерий в присутствии различных фотокатализаторов на основе диоксида титана, модифицированного катионными примесями, при облучении видимым светом естественного или искусственного происхождения.

Наиболее эффективным фотокатализатором в процессах фотокаталитической инактивации как грамотрицательных, так и грамположительных бактерий является образец 600-W-20.

Стоит отметить, что образцы чистого TiO_2 и 600-W-5 проявляют существенную ФКА в процессе инактивации грамположительных бактерий *Micrococcus* sp., чего не наблюдается по отношению к грамотрицательным бактериям *Pseudomonas fluorescens*.

Показано, что с увеличением степени освещенности увеличивается антибактериальная активность ФК.

Список источников

1. Седнева Т. А., Локшин Э. П., Беликов М. Л. Фотокаталитическая активность модифицированного железом диоксида титана // Химическая технология. 2012. № 2. С. 75–82.
2. Фотокаталитическая активность мезопористых нанокомпозитов $\text{TiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$ / Т. А. Седнева [и др.] // Доклады Академии наук. 2012. Т. 447, № 5. С. 523–525.
3. Седнева Т. А., Локшин Э. П., Калинин В. Т., Беликов М. Л. Фотокаталитическая активность модифицированного вольфрамом диоксида титана / Т. А. Седнева [и др.] // Доклады Академии наук. 2012. Т. 443, № 2. С. 195–197.
4. Фотокаталитические композиты на основе TiO_2 и Nb_2O_5 / Т. А. Седнева [и др.] // Неорганические материалы. 2013. Т. 49, № 4. С. 395–403.
5. Синтез и физико-химические свойства фотокаталитических оксидных композитов на основе титана (IV) и кобальта (II) / Т. А. Седнева [и др.] // Неорганические материалы. 2016. Т. 52, № 2. С. 187–196.
6. Беликов М. Л., Седнева Т. А., Локшин Э. П. Синтез, свойства и фотокаталитическая активность в видимом свете нестехиометрических оксидных композитов на основе диоксида титана // Неорганические материалы. 2020. Т. 56, № 6. С. 762–773.
7. Беликов М. Л., Седнева Т. А., Локшин Э. П. Адсорбционные и фотокаталитические свойства диоксид титана, модифицированного вольфрамом // Неорганические материалы. 2021. Т. 47, № 2. С. 154–162.
8. Беликов М. Л., Сафарян С. А. Адсорбционные и фотокаталитические свойства диоксида титана, модифицированного молибденом // Неорганические материалы. 2022. Т. 58, № 7. С. 742–749.
9. Аристовская В. В., Владимирская М. Е., Голлербах М. М. Большой практикум по микробиологии: учеб. пособие. М.: Высш. шк., 1962. 491 с.
10. Caballero L., Whitehead K. A., Allen N. S., Verran J. Inactivation of *Escherichia coli* on immobilized TiO_2 using fluorescent light // J. Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. 2009. Vol. 202. P. 92–98.
11. Matthews R. W., McEvoy S. R. Destruction of Phenol in Water with Sun, Sand, and Photocatalysis // Solar Energy. 1992. Vol. 49. P. 507–513.
12. Photo-induced toxicity of tungsten oxide photochromic nanoparticles / A. L. Popov [et al.] // J. Photochemistry & Photobiology, B: Biology. 2018. Vol. 178. P. 395–403.
13. Antibacterial Activity of TiO_2 Photocatalyst Alone or in Coatings on *E. coli*: The Influence of Methodological Aspects / T. Verdier [et al.] // Coatings. 2014. Vol. 4, No. 3. P. 670–686.
14. Инактивация бактерий в присутствии фотокатализаторов на основе TiO_2 , модифицированного вольфрамом или железом, при облучении видимым светом / С. А. Сафарян [и др.] // Труды Кольского научного центра РАН. Серия: Технические науки. Химические технологии, науки о материалах, металлургия. Вып. 6: [Доклады XVI Всероссийской научно-технической конференции молодых ученых, специалистов и студентов вузов «Научно-практические проблемы в области химии и химических технологий», 20–22 апреля 2022 г.]. 2022. Т. 13, № 1. С. 217–222.

References

1. Sedneva T. A., Lokshin E. P., Belikov M. L. Fotokataliticheskaya aktivnost' modifitsirovannogo zhelezom dioksida titana [Photocatalytic susceptibility of iron-modified titanium dioxide]. *Khimicheskaya tekhnologiya* [Chemical Technology]. 2012, No. 2, pp. 75–82. (In Russ.).

2. Sedneva T. A., Lokshin E. P., Belikov M. L., Kalinnikov V. T. Fotokataliticheskaya aktivnost' mezoporistyyh nanokompozitov $\text{TiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$ [Photocatalytic activity of mesoporous $\text{TiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$ nanocomposites]. *Doklady Akademii nauk* [Papers of the Academy of Sciences]. 2012, Vol. 447, No. 5, pp. 523–525. (In Russ.).
3. Sedneva T. A., Lokshin E. P., Kalinnikov V. T., Belikov M. L. Fotokataliticheskaya aktivnost' modificirovannogo vol'framom dioksida titana [Photocatalytic activity of tungsten-modified titanium dioxide]. *Doklady Akademii nauk* [Papers of the Academy of Sciences]. 2012, Vol. 443, No. 2, pp. 195–197. (In Russ.).
4. Sedneva T. A., Lokshin E. P., Belikov M. L., Belyaevskij A. T. Fotokataliticheskie kompozity na osnove TiO_2 i Nb_2O_5 [Photocatalytic composites based on TiO_2 and Nb_2O_5]. *Neorganicheskie materialy* [Inorganic Materials]. 2013, Vol. 49, No. 4, pp. 395–403. (In Russ.).
5. Sedneva T. A., Lokshin E. P., Belikov M. L., Belyaevskij A. T. Sintez i fiziko-himicheskie svoystva fotokataliticheskikh oksidnykh kompozitov na osnove titana (IV) i kobal'ta (II) [Synthesis and physicochemical properties of photocatalytic oxide composites based on titanium (IV) and cobalt (II)]. *Neorganicheskie materialy* [Inorganic Materials]. 2016, Vol. 52, No. 2, pp. 187–196. (In Russ.).
6. Belikov M. L., Sedneva T. A., Lokshin E. P. Sintez, svoystva i fotokataliticheskaya aktivnost' v vidimom svete nestekhiometricheskikh oksidnykh kompozitov na osnove dioksida titana [Synthesis, properties and photocatalytic activity in visible light of non-stoichiometric oxide composites based on titanium dioxide]. *Neorganicheskie materialy* [Inorganic Materials]. 2020, Vol. 56, No. 6, pp. 762–773. (In Russ.).
7. Belikov M. L., Sedneva T. A., Lokshin E. P. Adsorbciionnye i fotokataliticheskie svoystva dioksida titana, modificirovannogo vol'framom [Adsorptive and photocatalytic properties of titanium dioxide modified with tungsten]. *Neorganicheskie materialy* [Inorganic Materials]. 2021, Vol. 47, No. 2, pp. 154–162. (In Russ.).
8. Belikov M. L., Safaryan S. A. Adsorbciionnye i fotokataliticheskie svoystva dioksida titana, modificirovannogo molibdenom [Adsorptive and photocatalytic properties of titanium dioxide modified with molybdenum]. *Neorganicheskie materialy* [Inorganic Materials]. 2022, Vol. 58, No. 7, pp. 742–749. (In Russ.).
9. Aristovskaya V. V., Vladimirskaia M. E., Gollerbah M. M. *Bol'shoy praktikum po mikrobiologii* [Large Microbiology Workshop]. Moscow, Vysshaya Shkola, 1962. 491 p.
10. Caballero L., Whitehead K. A., Allen N. S., Verran J. Inactivation of *Escherichia coli* on immobilized TiO_2 using fluorescent light. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2009, Vol. 202, pp. 92–98.
11. Matthews R. W., McEvoy S. R. Destruction of Phenol in Water with Sun, Sand, and Photocatalysis. *Solar Energy*, 1992, Vol. 49, pp. 507–513.
12. Popov A. L., Zholobak N. M., Balko O. I., Balko O. B., Shcherbakov A. B., Popova N. R., Ivanova O. S., Baranchikov A. E., Ivanov V. K. Photo-induced toxicity of tungsten oxide photochromic nanoparticles. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 2018, Vol. 178, pp. 395–403.
13. Verdier T., Coutand M., Bertron A., Roques C. Antibacterial Activity of TiO_2 Photocatalyst Alone or in Coatings on *E. coli*: The Influence of Methodological Aspects. *Coatings*, 2014, Vol. 4, No. 3, pp. 670–686.
14. Safaryan S. A., Belikov M. L., Fokina N. V., Redkina V. V. Inaktivaciya bakterij v prisutstvii fotokatalizatorov na osnove TiO_2 , modificirovannogo vol'framom ili zhelezom, pri obluchenii vidimym svetom [Inactivation of bacteria in the presence of photocatalysts based on TiO_2 modified with tungsten or iron when irradiated with visible light]. *Trudy Kol'skogo nauchnogo centra RAN. Seriya: Tekhnicheskie nauki*. [Transactions of the Kola Science Centre of RAS. Series: Technical Sciences]. 2022, Vol. 13, No. 1, pp. 217–222. (In Russ.).

Информация об авторах

М. Л. Беликов — кандидат технических наук, старший научный сотрудник;
Н. В. Фокина — кандидат технических наук, старший научный сотрудник;
А. С. Сошина — магистрант, инженер;
С. А. Сафарян — аспирант, инженер-исследователь.

Information about the authors

M. L. Belikov — PhD (Engineering), Senior Researcher;
N. V. Fokina — PhD (Engineering), Senior Researcher;
A. S. Soshina — Master degree student, Engineer;
S. A. Safaryan — Graduate Student, Research Engineer.

Статья поступила в редакцию 12.02.2023; одобрена после рецензирования 13.02.2023; принята к публикации 14.02.2023.
The article was submitted 12.02.2023; approved after reviewing 13.02.2023; accepted for publication 14.02.2023.