

## Антифунгальная защита строительных материалов производными гуминовых кислот в оценке АТФ-метрией

© 2024. О. В. Сенько, к. х. н., н. с.,

Н. А. Степанов, к. т. н., н. с.,

О. В. Маслова, к. х. н., с. н. с.,

Е. Н. Ефременко, д. б. н., профессор, зав. лабораторией,

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,

119991, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д. 1/3,

e-mail: senkoov@gmail.com

В настоящей работе с использованием метода биолюминесцентного люциферазного определения внутриклеточной концентрации аденозинтрифосфата в клетках мицелиальных грибов, известных своей биодеструкционной активностью по отношению к образцам строительных материалов, была проведена оценка возможности применения различных производных природных гуминовых кислот в качестве антифунгальных препаратов. Грибковый биоцид ACTICIDE® ОТП 10, содержащий 2-октил-4-изотиазолин-3-он, вводимый в затирку для заполнения межплиточных швов с целью предотвращения грибковых поражений в помещениях с высокой влажностью, применялся в работе как образец для сравнения. В качестве тест-культур использовались споры грибов *Aspergillus niger* F-1057 и *Stachybotrys chartarum* F-993, наиболее часто выявляемых среди грибных контаминаций строительных материалов. Среди этих исследованных веществ были образцы выделенного из угля (леонардита) гумата калия, модифицированного 2-метилгидрохиноном, 1,4-гидрохиноном и 2-гидрокси-1,4-гидрокси-нафтохиноном. При проведении экспериментов, направленных на изучение состояния межплиточных швов, была подтверждена антифунгальная активность гумата калия, модифицированного 2-гидрокси-1,4-гидрокси-нафтохиноном, к обоим объектам исследования. Это же соединение в концентрации 0,5–5,0 г/л проявляло заметный антифунгальный эффект при внесении в универсальный обойный клей, содержащий карбоксиметилцеллюлозу. Определение эффекта от воздействия той же добавки на споры мицелиальных грибов выявило такую антифунгальную активность, которая оказалась сопоставимой с действием коммерческого биоцида на начальном этапе исследования и превосходила его после 32 суток экспонирования грибов в контакте с изучаемой добавкой в конечной концентрации 5 г/кг строительного материала.

**Ключевые слова:** строительные материалы, антифунгальные свойства, гуминовые кислоты, грибковые культуры, люциферазная реакция.

## Antifungal protection of building materials by humic acid derivatives as assessed by ATP-metry

© 2024. O. V. Senko ORCID: 0000-0001-7831-6222, N. A. Stepanov ORCID: 0000-0003-0821-8226,

O. V. Maslova ORCID: 0000-0002-6358-1231, E. N. Efremenko ORCID: 0000-0002-6992-854X,

Lomonosov Moscow State University,

1/3, Leninskie Gory, Moscow, Russia, 119991,

e-mail: senkoov@gmail.com

Mycelial fungi are known by their biodestructive activity towards building material samples. In this work the possibility of using various derivatives of natural humic acids as antifungal agents was evaluated using the method of bioluminescent luciferase determination of the adenosine triphosphate intracellular concentration in the mycelial fungi cells. In order to prevent fungal lesions in rooms with high humidity the fungal biocide ACTICIDE® OTP 10 containing 2-octyl-4-isothiazoline-3-one is added to the tile grout; it was used as a comparison sample in our study. *Aspergillus niger* F-1057 and *Stachybotrys chartarum* F-993 spores were used as test cultures as the most frequently detected fungal contaminants of building materials. The samples of extracted from coal (leonardite) potassium humate modified with 2-methylhydroquinone, or 1,4-hydroquinone or 2-hydroxy-1,4-hydroxynaphthoquinone were the studied substances. The antifungal activity of potassium humate modified with 2-hydroxy-1,4-hydroxynaphthoquinone to both fungal test objects was confirmed in experiments aimed at studying the condition of intertile joints. The same compound at a concentration of 0.5–5.0 g/L showed noticeable antifungal effect when applied to a universal wallpaper adhesive containing carboxymethylcellulose. Antifungal activity of the same additive was comparable with the action of commercial biocide at the initial stage of the study, and after 32 days of exposure of fungi in contact with the studied additive at a final concentration of 5 g/kg of building material was superior to its action.

**Keywords:** building materials, antifungal effect, humic acids, fungal cells, luciferase reaction.

К эксплуатационным характеристикам современных строительных и отделочных материалов предъявляются всё более высокие требования в связи с необходимостью противостоять негативному воздействию различных факторов, в том числе и биоповреждениям. При условиях, благоприятных для развития микроорганизмов (повышении температуры и влажности во внутренних помещениях производственных и жилых зданий), процессы деградации строительных материалов сопровождаются выделением продуктов метаболизма, приводящих к негативному воздействию не только на материалы, но и на здоровье человека [1, 2]. В частности, такими эффектами характеризуются клетки грибов, выделяющих микотоксины [3], попадание которых далее в организм человека через ингаляционные и трансдермальные пути приводит к возникновению микотоксикозов, аллергических реакций, бронхо-лёгочных заболеваний. Сами клетки микроорганизмов могут попадать во внутренние помещения вместе с наружным воздухом, почвой, водой, растениями, пищевыми продуктами, животными и людьми [4–6]. Наибольшее количество микроорганизмов сосредоточено, прежде всего, на поверхностях в рабочих и жилых помещениях с повышенной влажностью, а также на оборудовании и приборах, контактирующих с водой (кондиционерах, насосных системах, приборах водораспыления, посудомоечных и стиральных машинах и др.).

Среди микроорганизмов особую опасность для контаминации внутренних помещений представляют плесневые грибы. К числу наиболее часто встречающихся среди них относятся грибы родов *Aspergillus*, *Stachybotrys*, *Cladosporium*, *Penicillium* и др. [3, 7]. Повышенный уровень влажности способствует прорастанию спор грибов, в частности, и тех, которые характеризуются наличием в клетках меланиновых пигментов, имеющих тёмную окраску, что сильно ухудшает внешний вид как жилых, так и промышленных помещений. Плесневые грибы могут развиваться практически на любых материалах, включая полимерные и композитные, благодаря их способности синтезировать и секретировать различные гидролитические ферменты, и выживать в широком диапазоне температур и значений pH [8].

Существуют различные методы защиты строительных материалов от биологических повреждений, включая использование фунгицидных добавок [9, 10], которые вводятся в состав материалов в процессе их изготов-

ления. Кроме того, на поверхность готовых строительных материалов и изделий, подверженных микробному поражению, наносятся биоцидные составы, а периодичность таких обработок может регулироваться возникающими потребностями [11, 12]. Поиск дешёвых средств, малотоксичных и эффективных в своём действии против мицелиальных грибов, которые могли бы применяться для обработки строительных материалов, является одной из актуальных задач в современном строительстве.

В качестве таких средств большой интерес вызывают производные природных гуминовых кислот, получаемых в промышленных количествах из каменного угля [13]. Они известны своей способностью ингибировать ферменты различных бактерий и архей, а также возможностью снижать их метаболическую активность [14, 15]. Интересно, что химически синтезированные производные гуминовых кислот, обладающие разным редокс-потенциалом, проявляют различное ингибирующее воздействие на бактериальные клетки, в том числе, находящиеся в сложных по составу консорциумах [15]. В отношении грибковых культур подобные исследования ранее не проводились и потому имеют научную новизну и актуальность.

В настоящее время существует стандартный метод контроля обсеменённости строительных материалов (ГОСТ 9.049-91), который основан на заражении материалов суспензией микроорганизмов-деструкторов и экспонировании образцов в условиях, благоприятных для их биодеструкции, в течение длительного времени. Оценка биостойкости строительных материалов с привнесёнными в них биоцидами производится в ходе последующего микробиологического анализа методом микроскопирования, однако данный метод не даёт точной информации, так как клетки могут не формировать колоний, подтверждающих их жизнеспособность, но при этом сохранять её. Известно, что биолюминесцентные методы анализа концентрации внутриклеточного аденозинтрифосфата (АТФ) могут использоваться как для контроля отклика клеток микроорганизмов на ингибирующий эффект разных веществ на их внеклеточные ферменты, необходимые им для выживания, так и эффектов, связанных с непосредственным биоцидным воздействием веществ на сами клетки [16, 17]. В основе высокочувствительной биолюминесцентной АТФ-метрии лежит использование специфичной реакции, катализируемой люциферазой (фермент

класса 1.13.12.7, катализирующий окисление люциферина, сопровождающееся излучением видимого света) светляков (*Photinus pyralis*), которая позволяет определять низкие остаточные концентрации АТФ в живых клетках и сравнивать по этому параметру эффективность воздействия на них потенциальных биоцидов. АТФ-метрия считается сегодня одним из быстрых и достоверных методов «быстрой микробиологии», позволяющих проводить эффективный скрининг ингибиторов клеточного роста и метаболизма [18].

Целью работы была оценка на основе данных биолюминесцентной АТФ-метрии потенциала различных производных гуминовых кислот, обладающих разным редокс-потенциалом, в качестве веществ, проявляющих антифунгальные свойства.

### Объекты и методы исследования

В исследовании антифунгального потенциала производных природных гуминовых кислот были использованы образцы следующих соединений: гуMAT калия (ГК), выделенный из угля (леонардита); ГК, химически модифицированный 2-метилгидрохиноном (ГКМНҚ), 1,4-гидрохиноном (ГКНҚ) и 2-гидрокси-1,4-гидроксиафтохиноном (ГКНҚ). Все соединения ранее были исследованы по содержанию химических элементов, редокс-потенциалу и распределению углерода по структурным фрагментам [13, 14]. Основные характеристики использованных в данной работе производных гуминовых кислот представлены в таблице.

Для сравнения в работе использовался грибковый биоцид АСТICIDE® ОTR 10, содержащий 2-октил-4-изотиазолин-3-он, вводимый в затирку для заполнения межплиточных швов с целью предотвращения грибковых поражений в помещениях с высокой влажностью. Также в работе использовался клей обоечный универсальный КМЦ, жизнеспособность грибных спор в котором оценивалась в присутствии и отсутствии исследуемых добавок. В качестве клеток тест-культур в работе применялись споры грибов *Aspergillus niger* F-1057 и *Stachybotrys chartarum* F-993, наиболее часто выявляемые среди грибных контаминаций разных строительных материалов.

Накопление спор грибов *A. niger* F-1057 и *S. chartarum* F-993 проводилось при их культивировании на питательных агаризованных средах (мальт-пептонном агаре и суслоагаре, соответственно), рекомендованных для них

во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (<https://vkpm.genetika.ru/katalog-mikroorganizmov>).

Суспензии спор грибов в 0,9% растворе NaCl, приготовленные методом смыва с твердых питательных сред в концентрации  $(1,0-1,2) \cdot 10^7$  спор/мл, наносились на образцы керамических плиток и межплиточные шовные поверхности таким образом, чтобы конечная концентрация спор составляла  $1 \cdot 10^6$  спор/см<sup>2</sup>. Далее полученные образцы экспонировались при температуре  $(21 \pm 1)$  °C и влажности  $(81 \pm 1)$ % в термостатируемой камере, которые регулярно контролировались и поддерживались на постоянном уровне.

Для сравнения антифунгального эффекта, оказываемого на грибы образцами гуминовых кислот и применяемым на практике грибковым биоцидом АСТICIDE® ОTR 10, содержащим 2-октил-4-изотиазолин-3-он, все вещества вносились одинаково в состав межшовной затирки в концентрации 5 г/кг. В клей универсальный КМЦ (Каменский химкомбинат, Россия), приготовленный согласно рекомендациям производителя, вносились те же суспензии спор, что и в межшовную затирку, но при этом использовалось только соединение ГКНҚ, которое добавлялось в клей в концентрации 0,5–5,0 г/л после выявления у этого вещества наиболее выраженного антифунгального действия в эксперименте на межплиточной шовой затирке.

Люциферин-люциферазный реагент для АТФ-метрии (ЗАО Биохиммак, Москва, Россия) использовался для определения концентрации внутриклеточного АТФ, согласно известному методу с применением диметилсульфоксида в качестве экстрагента [18]. Все эксперименты проводились в трёх повторностях, полученные данные статистически обрабатывались в программе SigmaPlot (версия 12.5, Systat Software Inc., США).

### Результаты и обсуждение

Предварительный анализ выбранных для исследования производных гуминовых кислот (табл. 1) свидетельствовал о том, что все эти соединения относятся к числу низкомолекулярных гуминовых веществ, содержащих такой набор химических функциональных групп, который обеспечивает им хорошую растворимость в различных средах, которые могут применяться для приготовления строительных материалов. Лучшая растворимость обеспечивает и лучшую биодоступность для клеток

Таблица / Table

Основные характеристики образцов гуминовых кислот, использованных в работе  
Main characteristics of humic acid samples used in the study

Характеристики / Characteristic	ГК / PH	ГКМНҚ PHMНҚ	ГКНҚ PHNҚ	ГКНҚ PHNҚ
Молекулярная масса, кДа Molecular weight, kDa	9,3	7,5	7,2	9,4
Элементный состав, % / Elemental composition, %				
C	62,2	71,5	55,31	64,9
H	4,6	5,2	3,7	4,3
N	1,7	1,3	2,3	1,0
O	31,4	22,0	38,7	29,8
Распределение углерода по структурным фрагментам, % от общего содержания углерода Carbon distribution by structural fragments, % of total carbon content				
CНn (алкильные цепи) CНn (alkyl chains)	14,0	17,6	11,3	10,0
C <sub>Alc-O</sub> *	9,0	11,2	12,2	6,0
C <sub>Ar</sub> **	42,8	42,0	40,4	46,8
C <sub>Ar-O</sub> ***	10,6	10,1	11,8	7,6
C <sub>COO</sub>	16,6	13,9	16,7	16,6
C <sub>C=O</sub>	7,0	5,2	7,6	13,0
Редокс-ёмкость, ммоль/г Redox capacity, mmol/g	0,2	1,0	0,9	0,1
Антиоксидантная активность***, моль/мг Antioxidant activity, mol/mg	0,5	2,0	1,7	1,0

Примечание к таблице и рисункам 1–3: ГК – гумат калия, выделенный из угля (леонардита), ГКМНҚ – гумат калия, химически модифицированный 2-метилгидрохиноном, ГКНҚ – гумат калия, химически модифицированный 1,4-гидрохиноном, ГКНҚ – гумат калия, химически модифицированный 2-гидрокси-1,4-гидроксиафтахиноном, \*C<sub>Alc-O</sub> – O-замещённый алифатический углерод, \*\*C<sub>Ar</sub> – ароматический углерод, \*\*\*C<sub>Ar-O</sub> – O-замещённый ароматический углерод, \*\*\* – при определении в качестве эквивалента использовался Тролокс.

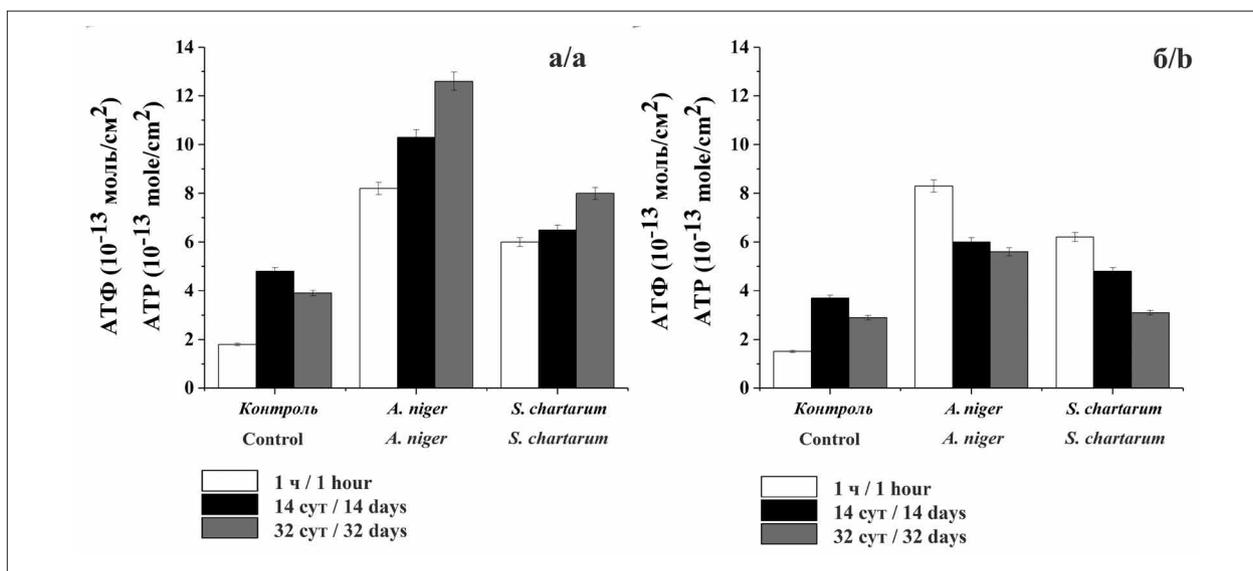
Note on table and figures 1–3: PH – potassium humate isolated from coal (leonardite), PHMНҚ – potassium humate, chemically modified with 2-methylhydroquinone, PHNҚ – potassium humate, chemically modified with 1,4-hydroxy-1,4-hydroxy-2-naphthoquinone, PHNҚ – potassium humate, chemically modified with 2-hydroxy-1,4-hydroxy-2-naphthoquinone, \*C<sub>Alc-O</sub> – substituted O-aliphatic carbon, \*\*C<sub>Ar</sub> – aromatic carbon, \*\*\*C<sub>Ar-O</sub> – substituted O-aromatic carbon, \*\*\* – Trolox was used as an equivalent in the determination.

антимикробных агентов, способных гипотетически более эффективно проявлять свою противомикробную активность. Небольшой размер молекул, выбранных для эксперимента гуминовых кислот (табл. 1), согласно литературным данным [19, 20], должен обеспечивать им проникновение в клетки микроорганизмов, способствуя проявлению антимикробных свойств. Чтобы снизить вероятность постоянного прямого контакта с человеком потенциально активные антифунгальные агенты были введены в сухом виде в межплиточную шовную затирку и в объём водного раствора обойного клея, которые могли бы сдерживать развитие грибов в подобных материалах.

Введение веществ с предполагаемой антифунгальной активностью в состав шовной затирки для облицовочных плиток было выполнено аналогично тому, как это делается

на практике с коммерческим применяемым биоцидом АСТИЦИД® ОТП. Далее было произведено нанесение спор грибов из их суспензий на подготовленные поверхности и осуществлено экспонирование полученных образцов в течение нескольких суток с параллельным отбором проб на биOLUMИнесцентное определение концентрации АТФ в клетках грибов (рис. 1). Во всех образцах с коммерческим биоцидом (рис. 1б) обсеменённость образцов, независимо от грибного штамма, была ниже в сравнении с контрольными образцами без биоцида (рис. 1а).

С течением времени эффективность действия биоцида АСТИЦИД® ОТП постепенно снижалась, что приводило к прорастанию спор, и в отношении гриба *A. niger* действие биоцида после месяца проводимых исследований оказалось в 2 раза менее эффективным



**Рис. 1.** Концентрация внутриклеточного АТФ, определённая в материалах с грибными спорами, взятыми с поверхности керамической плитки без биоцидной добавки в межплиточную затирку (а) и с биоцидной добавкой в виде 2-октил-4-изотиазолин-3-она в концентрации 5 г/кг (б)  
**Fig. 1.** The concentration of intracellular ATP determined in materials with fungal spores taken from the surface of ceramic tiles without a biocidal additive in the interplate grout (a) and with 5 g/kg of 2-octyl-4-isothiazoline-3-one biocidal additive (b)

в сравнении со второй исследуемой грибковой культурой (рис. 1б). Здесь следует отметить, что в отличие от производных гуминовых кислот коммерческий биоцид является трудно растворимым соединением, требует использования органического растворителя (аcetона) для его введения в строительные материалы, и после введения и улетучивания аcetона снижается биодоступность биоцида и его антифунгальное действие по отношению к спорам грибов.

Было установлено, что обсеменённость спорами гриба *A. niger*, которая контролировалась с помощью биолюминесцентной АТФ-метрии, была выше, чем аналогичный параметр, установленный для *S. chartarum* (рис. 1б), что говорило о том, что клетки р. *Aspergillus* в выбранных условиях проведения эксперимента оказались более жизнеспособными и устойчивыми к воздействию использованной коммерческой фунгицидной добавки. Следовательно, при её введении в состав строительных материалов следует увеличивать её концентрацию или заменить на другую.

Исследование антифунгального действия выбранных производных гуминовых кислот на споры тех же мицелиальных грибов выявило у них наличие антифунгальной активности, которая оказалась сопоставимой с действием коммерческого биоцида на начальном этапе исследования и проявила более существенное

антимикробное воздействие по результатам после 32-суточного экспонирования спор в контакте с исследуемыми добавками в концентрации 5 г/кг строительного материала. Лучшим среди исследованных соединений оказался ГКNQ (рис. 2).

Нафтохинон-содержащий образец отличался от других производных ГК тем, что он обладал свойствами наиболее активного акцептора электронов. В аэробных системах роль акцептора электронов обычно выполняет молекулярный кислород, при этом для поддержания энергетического баланса в клетках грибов необходимо функционирование существующей дыхательной цепи переноса электронов. В этой связи присутствие дополнительного акцептора электронов в среде с клетками грибов, и его возможное проникновение в клетку [19], очевидно, приводит к снижению уровня синтеза ими внутриклеточного АТФ и интенсивности их метаболической активности.

Известно, что клеткам грибов при их прорастании и существовании в вегетативном состоянии для синтеза ферментов, необходимых для биодеградации субстратов, присутствующих в микроокружении, необходим значительный расход молекул АТФ [21, 22]. А поскольку синтез АТФ в аэробных условиях в присутствии акцепторов электронов, отличных от O<sub>2</sub>, снижен, то в целом такие условия приводят к желаемому

результату в виде снижения уровня жизнеспособности клеток грибов-контаминантов. Сами гуминовые кислоты способны вступать во множественные нековалентные взаимодействия с белками, в частности, с ферментами, секретируемыми клетками грибов, образуя межмолекулярные водородные и гидрофобные связи, которые способствуют, таким образом, «иммобилизации» ферментов с частичной потерей ими своей подвижности и каталитической активности. В первую очередь, это касается, как ранее было установлено, именно гидролитических ферментов разных микроорганизмов [15, 23]. Как известно, такие гидролазы максимально важны именно для грибов, поскольку основные процессы подготовки субстратов к их потреблению и усвоению клетками грибковых культур осуществляются вне их тела под гидролитическим воздействием соответствующих секретируемых ферментов [22]. В этой связи, ГКНҚ, исследованный среди других образцов гуминовых кислот, имел разноплановое воздействие на клетки грибов-контаминантов строительных материалов: действие «ловца электронов», предназначенных для переноса в дыхательной цепи, необходимого для выработки и запасания энергии в клетках, и «ловца-нейтрализатора» ферментов, способных обеспечить клетки грибов питательными веществами. Именно биолюминесцентная

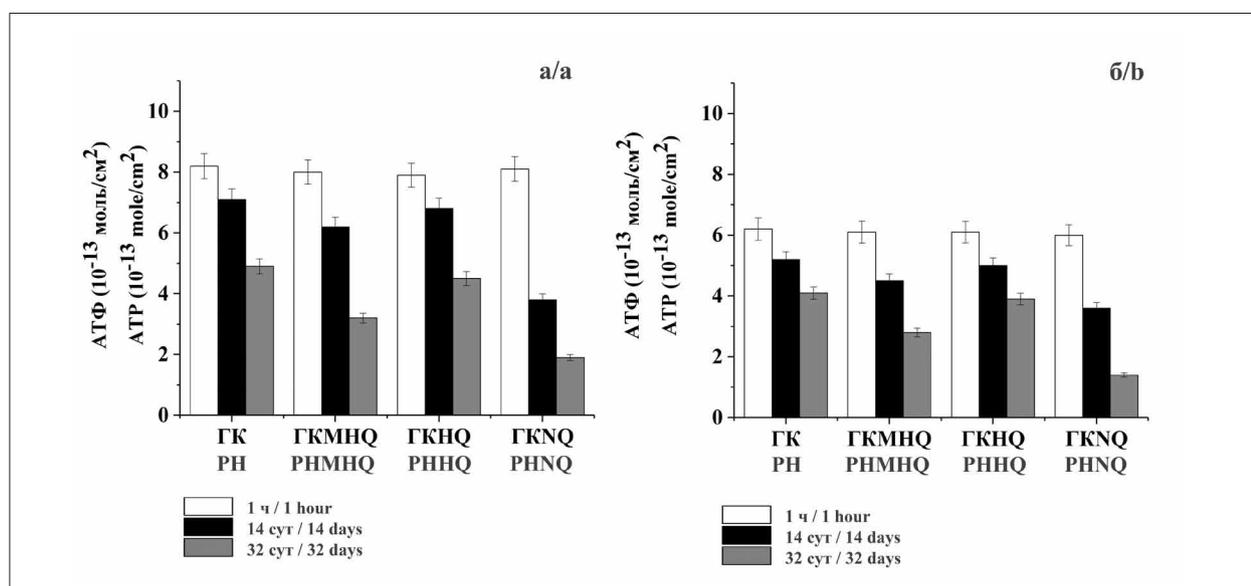
АТФ-метрия позволила подтвердить факт снижения энергетического запаса в клетках грибов.

На следующем этапе работы было исследовано антифунгальное действие только ГКНҚ в отношении тех же двух грибковых культур, но уже в среде водного раствора клея обойного КМЦ. ГКНҚ вводился в среду с обойным клеем в разных концентрациях (рис. 3).

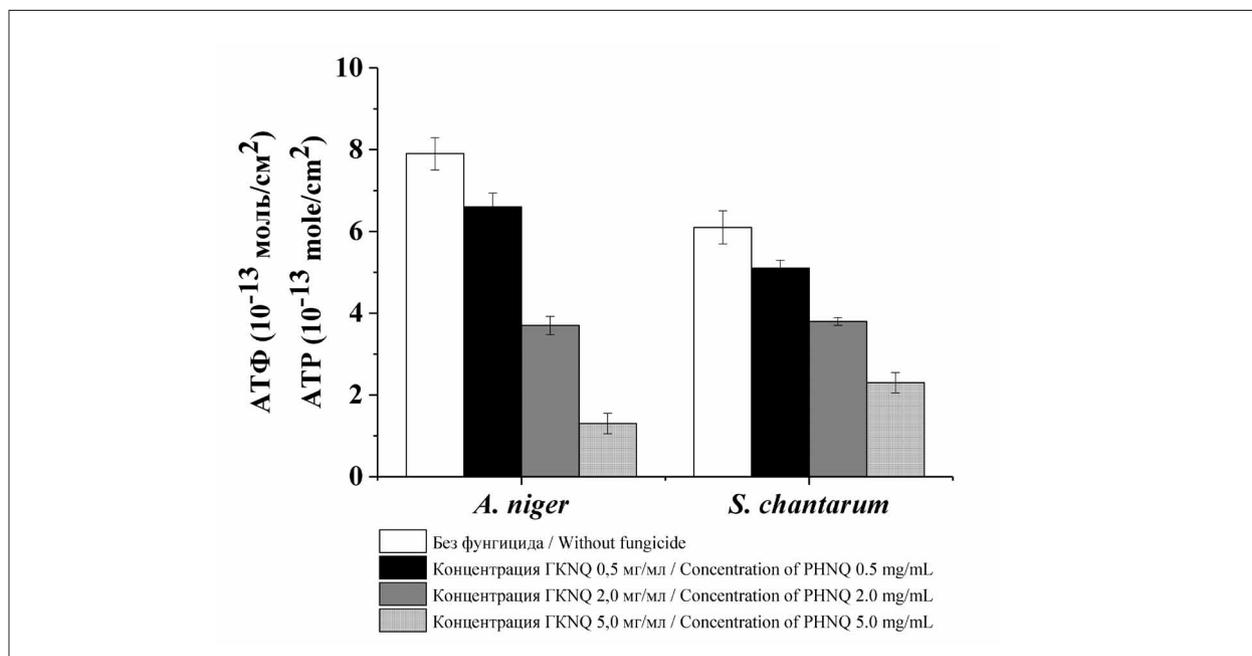
В результате проведённых исследований было установлено, что в течение 1 суток в исследуемом растворе клея обойного происходило заметное снижение обсеменённости образца строительного материала в присутствии ГКНҚ, при этом просматривалась чёткая зависимость антифунгального воздействия исследуемого вещества от его концентрации. Следует отметить, что в сравнении с концентрациями, рекомендуемыми для применения биоцидов в межшовных затирочных материалах, в случае с клеем такие концентрации для ГКНҚ явно могут быть снижены в разы.

### Заклучение

Таким образом, введение ГКНҚ в межшовную затирку для облицовочной плитки обеспечило результат, сопоставимый с применением коммерчески используемого биоцида, который может на практике гарантировать существенное снижение риска контаминации соответствующих строительных материалов



**Рис. 2.** Концентрация внутриклеточного АТФ, определённая в материалах с грибными спорами *Aspergillus niger* (а) и *Stachybotrys chartarum* (б), взятых с поверхности керамической плитки после их нанесения на образцы с добавками производных гуминовых кислот в межплиточную шовную затирку в концентрации 5 г/кг / **Fig. 2.** The concentration of intracellular ATP determined in materials with *Aspergillus niger* (a) and *Stachybotrys chartarum* (b) fungal spores taken from the surface of ceramic tiles after their application on samples with additives of 5 g/kg humic acids derivatives in the interplate suture grout



**Рис. 3.** Концентрация внутриклеточного АТФ, определённая в клее обойном универсальном КМЦ с внесёнными грибными спорами *Aspergillus niger* и *Stachybotrys chartarum* через 24 ч после их внесения в клей, содержащий ГКНҚ. В контроль добавки ГКНҚ не вносились / **Fig. 3.** Intracellular ATP concentration determined in the universal KMC wallpaper glue with *Aspergillus niger* and *Stachybotrys chartarum* spores after 24 hours of their introduction into the glue with PHNQ. No PHNQ additives were in the control

плесневыми грибами, а биолюминесцентная АТФ-метрия позволяет легко контролировать этот процесс. Исследование эффективности применения производных гуминовых кислот для подобных целей было осуществлено впервые и позволило выявить лидера (ГКНҚ), а также возможность варьирования его концентраций для антифунгальной защиты обрабатываемых материалов.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-14-00092).*

### References

- Hegarty B., Dannemiller K.C., Peccia J. Gene expression of indoor fungal communities under damp building conditions: Implications for human health // *Indoor Air*. 2018. V. 28. No. 4. P. 548–558. doi: 10.1111/ina.12459
- Wang J., Janson C., Lindberg E., Holm M., Gislason T., Benediktsdóttir B., Johannessen A., Schlünssen V., Jogi R., Franklin K.A., Norbäck D. Dampness and mold at home and at work and onset of insomnia symptoms, snoring and excessive daytime sleepiness // *Environ. Int.* 2020. V. 139. Article No. 105691. doi: 10.1016/j.envint.2020.105691
- Skrobot III F., Diehl S.V., Borazjani H. Mycotoxin production by *Stachybotrys chartarum* on water-damaged building materials // *BioRes*. 2017. V. 12. No. 3. P. 6490–6503. doi: 10.15376/biores.12.3.6490-6503

- Gilbert J.A., Stephens B. Microbiology of the built environment // *Nat. Rev. Microbiol.* 2018. V. 16. No. 11. P. 661–670. doi: 10.1038/s41579-018-0065-5
- Novak Babič M., Gostinčar C., Gunde-Cimerman N. Microorganisms populating the water-related indoor biome // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2020. V. 104. No. 15. P. 6443–6462. doi: 10.1007/s00253-020-10719-4
- Rocchi S., Reboux G., Scherer E., Laboissière A., Zaros C., Rouzet A., Valot B., Khan S., Dufourg M.N., Leynaert B., Raheison C., Millon L. Indoor microbiome: Quantification of exposure and association with geographical location, meteorological factors, and land use in France // *Microorganisms*. 2020. V. 8. No. 3. Article No. 341. doi: 10.3390/microorganisms8030341
- Hegarty B., Pan A., Haverinen-Shaughnessy U., Shaughnessy R., Peccia J. A DNA sequence-based approach for classifying the mold status of buildings // *Environ. Sci. Technol.* 2020. V. 54. No. 24. P. 15968–15975. doi: 10.1021/acs.est.0c03904
- Wösten H.A.B. Filamentous fungi for the production of enzymes, chemicals and materials // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2019. V. 59. P. 65–70. doi: 10.1016/j.copbio.2019.02.010
- Aburto-Medina A., Le P.H., MacLaughlin S., Ivanova E. Diversity of experimental designs for the fabrication of antifungal surfaces for the built environment // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2021. V. 105. No. 7. P. 2663–2674. doi: 10.1007/s00253-021-11214-0
- Ghamrawi S., Bouchara J.P., Corbin A., Rogalsky S., Tarasyuk O., Bardeau J.F. Inhibition of fungal growth by

silicones modified with cationic biocides // Mater. Today Commun. 2020. V. 22. Article No. 100716. doi: 10.1016/j.mtcomm.2019.100716

11. Dyshlyuk L., Babich O., Ivanova S., Vasilchenko N., Atuchin V., Korolov I., Russakov D., Prosekov A. Antimicrobial potential of ZnO, TiO<sub>2</sub> and SiO<sub>2</sub> nanoparticles in protecting building materials from biodegradation // Int. Biodeterior. Biodegrad. 2020. V. 146. Article No. 104821. doi: 10.1016/j.ibiod.2019.104821

12. Płaza G., Achal V. Biosurfactants: Eco-friendly and innovative biocides against biocorrosion // International Journal of Molecular Sciences. 2020. V. 21. No. 6. Article No. 2152. doi: 10.3390/ijms21062152

13. Volikov A.B., Mareev N.V., Konstantinov A.I., Molodykh A.A., Melnikova S.V., Bazhanova A.E., Gasanov M.E., Nikolaev E.N., Zhrebker A.Ya., Volkov D.S., Zykova M.V., Perminova I.V. Directed synthesis of humic and fulvic derivatives with enhanced antioxidant properties // Agronomy. 2021. V. 11. No. 10. Article No. 2047. doi: 3390/agronomy11102047

14. Efremenko E., Senko O., Stepanov N., Mareev N., Volikov A., Perminova I. Suppression of methane generation during methanogenesis by chemically modified humic compounds // Antioxidants. 2020. V. 9. No. 11. Article No. 1140. doi: 10.3390/antiox9111140

15. Efremenko E., Stepanov N., Senko O., Maslova O., Volikov A., Zhirkova A., Perminova I. Strategies for variable regulation of methanogenesis efficiency and velocity // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2022. V. 106. No. 19–20. P. 6833–6845. doi: 10.1007/s00253-022-12148-x

16. Stepanov N., Senko O., Perminova I., Efremenko E. A new approach to assess the effect of various humic compounds on the metabolic activity of cells participating in methanogenesis // Sustainability. 2019. V. 11. Article No. 3158. doi: 10.3390/su11113158

17. Efremenko E., Senko O., Stepanov N., Maslova O., Lomakina G.Yu., Ugarova N. Luminescent analysis of ATP: Modern objects and processes for sensing // Chemosensors. 2022. V. 10. No. 11. Article No. 493. doi: 10.3390/chemosensors10110493

18. Efremenko E.N., Ugarova N.N., Lomakina G.Y., Senko O.V., Stepanov N.A., Maslova O.V., Aslanly A.G., Lyagin I.V. Bioluminescent ATP-metry: practical aspects. Moskva: Publishing House “Scientific Library”, 2022. 376 p. (in Russian). doi: 10.36871/978-5-907497-77-1

19. Popa D.G., Lupu C., Constantinescu-Aruxandei D., Oancea F. Humic substances as microalgal biostimulants – implications for microalgal biotechnology // Mar. Drugs. 2022. V. 20. No. 5. Article No. 327. doi: 10.3390/md20050327

20. Klein O.I., Isakova E.P., Deryabina Y.I., Kuliko-va N.A., Badun G.A., Chernysheva M.G., Stepanova E.V., Koroleva O.V. Humic substances enhance growth and respiration in the basidiomycetes *Trametes maxima* under carbon limited conditions // J. Chem. Ecol. 2014. V. 40. No. 6. P. 643–652. doi: 10.1007/s10886-014-0445-x

21. Niture S.K., Kumar A.R., Pant A. Role of glucose in production and repression of polygalacturonase and pectate lyase from phytopathogenic fungus *Fusarium moniliforme* NCIM 1276 // World J. Microbiol. Biotechnol. 2006. V. 22. P. 893–899. doi: 10.1007/s11274-006-9119-3

22. Li B., Lai T., Qin G., Tian S. Ambient pH stress inhibits spore germination of *Penicillium expansum* by impairing protein synthesis and folding: a proteomic-based study // J. Proteome Res. 2010. V. 9. No. 1. P. 298–307. doi: 10.1021/pr900622j

23. Lyu L., Li Y., Zhang S., Chen Z. Deeper insights into the effect of humic acid on kitchen waste anaerobic digestion: Enzyme activities, microbial community dynamics, and key metabolic pathways // Fermentation. 2023. V. 9. No. 10. Article No. 881. doi: 10.3390/fermentation9100881