

Биолог. журн. Армении, 1-2 (59), 2007

УДК 678:579.6:620.193.8

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБНОГО ОБРАСТАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Ս.Ս. ԿԱԶԱՆՉԻԱՆ

Центр микробиологии и депонирования микробов НАН РА, 2201, г. Абовян,
microbio@sci.am

Обобщены данные по микробному обрастанию используемых в космической технике различных синтетических полимерных материалов. Установлено, что доминирующими группами микробиоты обрастания полимеров являются виды *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Trichoderma*. Микробное обрастание и адгезия могут быть использованы как критерии оценки биостойкости полимерных материалов.

Ամփոփվել են տիեզերական տեխնիկայում օգտագործվող սինթետիկ պոլիմերային նյութերի միկրոբային զերածի տվյալները: Հաստատվել է, որ պոլիմերների զերածի միկրոբիոտայի զերակազմը խմբեր են հանդիսանում *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Trichoderma* տեսակները: Սիկրոբային զերածը և ադիեզիան կարող են օգտագործվել որպես պոլիմերային նյութերի կենսակայունության գնահատման չափանիշ:

The data of microbial overgrowth of different types of synthetic polymeric materials used in space technique have been generalized. It was established, that dominant groups of microbial overgrowth and biodeterioration are represented by species of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Trichoderma*. The fungal overgrowth and microbial adhesion phenomenon could be recommended as additional criteria for characteristics of biostability of polymeric materials.

Биоповреждения - адгезия микробов — полимерные материалы

Микробные повреждения и разрушения синтетических полимерных материалов широко известны, что связано с важностью процесса биоповреждения материалов, приводящего к структурным и функциональным нарушениям их эксплуатации. Благодаря процессам микробной деструкции полимеров, обеспечивается их разрушение и обезвреживание окружающей среды от отходов. Вместе с тем, в процессе микробных разрушений на полимерных материалах формируются микробные сообщества, представляющие собой очаги инфицирования окружающей среды. В микробиоте могут быть различные агрессивные или условно-патогенные формы микроорганизмов, могущие создать санитарно — эпидемиологическую опасность среды, особенно в гермозонах и обитаемых космических аппаратах [1, 4, 10].

Наиболее обширная группа биодегрантов представлена грибами, вызывающими биодеструкцию полимерных и других материалов. По частоте встречаемости и обсемененности полимерных материалов и изделий из них, среди бактерий доминирующими являются представители родов *Staphylo-*

coccus, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*. среди грибов виды — *Penicillium chrysogenum*, *P. expansum*, *Aspergillus versicolor*, *A. niger*, *Cladosporium cladosporoides*, *C. sphaerospermum* [3, 7].

Особого внимания заслуживает характеристика видового состава микробиоты биоповреждений различных классов полимерных материалов. Известно, что многие из синтетических полимеров подвержены обрастанию ассоциациями бактериальных и грибных культур. Данные литературы и наших исследований подтверждают способность микроорганизмов, в том числе грибов, осваивать новые полимерные материалы, способствовать их повреждению, особенно в экстремальных условиях [1, 6, 9].

Вместе с тем, особенности микробного обрастания полимерных материалов различного состава изучены недостаточно. В этой связи важно подчеркнуть необходимость характеристики микробного сообщества, сформированного на различных полимерах в разнообразных эколого-географических условиях, в процессе натуральных и климатических испытаний различной продолжительности, изучения состава микробиоты в динамике обрастания и сукцессии разных видов биодеградантов.

В данной статье обобщены результаты собственных многолетних исследований по особенностям микробных обрастаний некоторых классов синтетических полимерных материалов, используемых в космической технике.

Материал и методика. В работе использованы образцы синтетических полимерных материалов разного химического состава, в том числе полиамиды, фторопласты, полиэфир, кремнийорганика, резинотехника, искусственная кожа. Исследованы исходные образцы полимеров, а также материалы, прошедшие натурные и ускоренные климатические испытания (УКИ) с имитацией разных сроков старения в течение 5, 10, 15 и более лет в разнообразных эколого-географических и почвенно-климатических условиях.

Микробиоту обрастания полимерных материалов изучали двумя основными методами: отпечатком образцов полимерных материалов на поверхности агаризованной среды и рассевом смыва стерильной водой микробиоты полимеров на агаризованные питательные среды. Оценку микробного обрастания проводили по 4-балльной шкале с подсчетом КОЕ (колониеобразующих единиц) на см² поверхности полимера. Рассевы проводили на среде Чапека, МПА и рыбопептонном агаре.

Для характеристики адгезивных свойств грибных биодеградантов применен метод прямых реплик (отпечатков). Образцы синтетических полимеров (5,0x5,0 см) фиксировали на поверхности репликатора, которые прикладывались на хорошо спорулированные колонии испытуемых грибов. Отпечатки делали на агаризованной питательной среде Чапека последовательными прикладываниями в 15 чашках Петри. Подсчет колоний проводили после инкубирования при 28° в течение 48–72 ч.

Результаты и обсуждение. В нашей работе мы уделяли большое внимание выявлению характерной особенности микробного обрастания полимеров различного состава. Исследования в течение многих лет на материале примерно 2-х тысяч различных полимеров показали, что состав микробиоты их значительно варьирует в зависимости от условий хранения, почвенно-климатических зон испытаний и многих других внешних факторов. Вместе с тем, отмечаются определенные характерные особенности в составе микробного обрастания отдельных классов полимеров, что видно из представленных в табл. 1 данных по характеристике микробиоты разных полимеров при складском хранении.

Таблица 1. Ведущие группы обрастания разных типов полимерных материалов

Полимеры	Доминантная микрофлора
Полиамид 1	<i>Aspergillus, Mucor, Scopulariopsis</i>
Полиамид 2	<i>Aspergillus, Fusarium, Mucor, Trichoderma</i>
Полиимид	<i>Aspergillus, Penicillium, Trichoderma</i>
Фторопласт 1	<i>Aspergillus, Fusarium, Penicillium</i>
Фторопласт 2	<i>Aspergillus, Mucor, Penicillium</i>
Полиэфир	<i>Aspergillus, Fusarium</i>
Кремнийорганика	<i>Aspergillus flavus, Penicillium</i>
Резинотехника	<i>Alternaria, Mucor, Aspergillus, Penicillium</i>
Искусственная кожа	<i>Aspergillus, Cunninghamella, Penicillium, Trichoderma</i>

Данные табл. 1 показывают, что наиболее широко распространенными в микобиоте обрастаний являются грибы *Aspergillus, Penicillium, Trichoderma*, что согласуется и с литературными данными [1, 6, 7]. Отмечаются и определенные различия в составе микобиоты обрастаний у различных полимеров, как-то в распространении *Mucor, Fusarium* и других грибов.

Таблица 2. Характеристика микробного обрастания полимерных материалов при различных испытаниях

Материал и испытание	Обрастание	
	Всего, КОЕ/см ²	Доминирующая группа
<i>Полиамид</i>		
Исходный	400	<i>Aspergillus, Mucor, Scopulariopsis, Oidiodendron</i>
1 год натуральных испытаний, теплый влажный климат	400	<i>Penicillium, Aspergillus</i>
1,5 г. натуральных испытаний, теплый влажный климат, склад	400	<i>A. tomarii, A. flavus</i>
1,5 г. натуральных испытаний, теплый влажный климат, навес	Сплошной грибной рост	<i>Aspergillus, Corynebacterium, Bacillus</i>
15 лет УКИ	200	Неспорообразующие бактерии
<i>Фторопласт</i>		
Исходный	Сплошной грибной рост	<i>Aspergillus, Fusarium, Penicillium</i>
Штатная эксплуатация, укладка	300	<i>Aspergillus, Micrococcus</i>
1 г. натуральных испытаний, теплый влажный климат, микологическая площадка	300	<i>Fusarium</i>
1 г. натуральных испытаний, теплый влажный климат, навес	300	<i>Aspergillus</i>
1 г. натуральных испытаний, теплый влажный климат, склад	200	Спорообразующие бактерии
3 г. натуральных испытаний, теплый влажный климат	Сплошной грибной рост	<i>Aspergillus, Penicillium</i>
10 лет УКИ	200	Неспорообразующие бактерии
15 лет УКИ	200	Неспорообразующие бактерии

В табл. 1 микрофлора обрастания материалов ограничена грибной флорой, которой принадлежит ведущая роль в процессах биоповреждений. Микробиологическими анализами нами выявилось наличие спорообразующих и неспорообразующих бактерий, актиномицетов и других микроорганизмов.

На большом фактическом материале нами исследованы особенности микробного обрастания полимеров в условиях их натуральных испытаний и УКИ различной продолжительности. Выборочные данные, представленные в табл. 2, показывают, что в условиях испытаний в различных экологических регионах отмечаются значительные различия в составе микрофлоры обрастания. Это же отмечается и в динамике экспозиции изучаемых материалов в течение различного периода. Как правило, при обильном развитии бактерий отмечается угнетение роста грибов и наоборот.

Выявлено, что после климатических испытаний разной продолжительности среди доминирующей микрофлоры преобладают споро- и неспорообразующие бактерии. Преобладание бактериальной микрофлоры на полимерах, прошедших УКИ, можно объяснить изменениями, происходящими под влиянием внешних воздействий. Так, установлено, что под влиянием климатических испытаний и при микробном повреждении в полимерах происходят структурные изменения в поверхностных и глубинных слоях, что в свою очередь влияет на видовой состав формирующейся микробиоты [2, 5, 8].

В преобладающем большинстве случаев нами отмечена корреляция между степенью грибного обрастания испытанных полимерных материалов с их биостойкостью.

Таблица 3. Адгезивные свойства грибов-деградантов к полимерным материалам

Штаммы грибов	Количество отпечатков, КОЕ/чашка							
	Полиэфир				Фторопласт			
	6	8	10	15	6	8	10	15
<i>Aspergillus niger</i> 8133*	∞**	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
<i>A. flavus</i> 8134	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
<i>A. terreus</i> 8114	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
<i>Aureobasidium pullulans</i> 8269	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Chaetomium globosum</i> 8117	7	8	9	0	∞	12	8	0
<i>Paecilomyces variotii</i> 8135	6	1	1	0	3	3	7	0
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> 8119	∞	∞	70	32	30	25	25	0
<i>Penicillium chrysogenum</i> 12110	80	45	0	0	∞	∞	∞	∞
<i>P. funiculosum</i> 8271	70	80	52	14	∞	∞	∞	∞
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> 8272	27	19	13	0	∞	∞	∞	∞
<i>Trichoderma viride</i> 8125	∞	∞	∞	∞	∞	200	200	80
<i>Ulocladium botrytis</i> 12037	2	2	1	0	∞	∞	∞	∞

Примечания: * номера штаммов указаны по Коллекции культур Центра депонирования микробов; ** знак ∞ означает сплошной рост грибов.

Для характеристики обрастания и колонизации грибов на полимерах нами изучалась их адгезия к поверхности этих материалов. Адгезия

микробных клеток к поверхности полимерных материалов является начальным этапом процесса биоповреждения, и исследование этого явления позволяет выявить характерные особенности этого процесса. Изучение адгезивных свойств грибов-деградантов проводили методом прямых реплик на полимерных пленках из фторопласта и полиэтилентерефталата (полиэфир). Выбор этих материалов обусловлен ранее проведенными исследованиями. На основе сравнительных испытаний выбраны фторопластовая пленка как гидрофобный материал (краевой угол смачивания Θ в пределах 90°) и полиэтилентерефталат – как гидрофильный (Θ в пределах $47-73^\circ$).

Проведенные исследования показали высокую адгезивную активность грибов родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*. Слабо адгезируют штаммы *Aureobasidium pullulans*, *Paecilomyces variotii*, *Chaetomium globosum* (табл. 3).

Таким образом, сравнительные испытания с применением различных штаммов грибов с биоповреждающей активностью к полимерам позволили заключить о наличии видовой специфики в микробной адгезии и в последующем обрастании полимеров.

Выполнение работы частично финансировалось МНТЦ (Проект А-092.2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Алехова Т.А., Александрова А.А., Новожилова Т.Ю., Лысак Л.В., Загустона Н.А., Безбородова А.М. Прикл. биохимия и микробиология, 41, 4, 435-443, 2005.
2. Антонян Л.Г., Гогинян В.Б., Казанчян Н.Л., Африкян Э.Г. Биолог. журн. Армении, 56, 1-2, 22-26, 2004.
3. Африкян Э.Г. В кн.: "Микробное повреждение материалов" под ред. Африкяна Э.Г., Ереван, 5-11, 1985.
4. Африкян Э.Г. Мат-ы 3-го Международного симпозиума "Проблемы биохимии, радиации и космической биологии", Дублин, 24-28 января, 2007.
5. Бархударян В.Г., Морозов В.Ф., Оганесян А.А., Казанчян Н.Л., Африкян Э.Г. Биолог. журн. Армении, 54, 3-4, 199-203, 2002.
6. Козловский А.Г., Желифонова В.П. и др. Прикл. биохимия и микробиология, 40, 3, 332-349, 2004.
7. Новикова Н.Д. Авиакосм. и эколог. мед., 35, 4, 32-40, 2001.
8. Berkeley R.C. W. et al.(eds). Microbial adhesion to surfaces. Ellis Horwood LTD., London, 1980.
9. Klintworth R., Reher H.J., Victorov A.N., Bohle D. Acta astronaut., 44, 569-578, 1999.
10. Novikova N.D., Kurakov A.V., Gevorkyan S.A., Goginyan V.B., Afrikan E.G. Microbiota of Space Flights. Proc. of 4th Scientific Conference, September 12-14, 2006, Kaluga, Russian Federation.

Поступила 21.V.2007