

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

На правах рукописи

КРЯЖЕВ ДМИТРИЙ ВАЛЕРЬЕВИЧ

**ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ДИАГНОСТИКИ
ПРОЦЕССОВ БИОДЕСТРУКЦИИ ПРИРОДНЫХ И
СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ В
УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ РЯДА АБИОТИЧЕСКИХ
ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ**

Специальность: 03.02.08 – экология (биология)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени доктора биологических наук

Научный консультант:
доктор биологических наук,
профессор, В.Ф. Смирнов

Нижний Новгород
2014

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Экологические и физиолого-биохимические особенности микроскопических грибов – деструкторов полимерных материалов	15
1.2. Использование в качестве источника питания полимерных материалов на основе природных и синтетических компонентов отдельными микроорганизмами и микробными сообществами	39
1.3. Основные средства и способы защиты от биоповреждений, вызываемых микроскопическими грибами	49
1.4. Влияние абиотических факторов внешней среды (факторов климатического старения) на процесс биоповреждения полимерных материалов	64
2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	
2.1. ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	77
2.1.1. Объем экспериментальных данных	77
2.1.2. Объекты исследований	78
2.1.3. Основные методы исследований	86
2.2. Стратегия и теоретическое обоснование методологии проведения диссертационного исследования	108
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	
3.1. Устойчивость к действию микромицетов полимерных композиций на основе природных и синтетических полимеров	110
3.1.1. Изучение способности служить источником питания для микромицетов у ряда синтетических полимерных материалов	110
3.1.2. Оценка устойчивости полимерных композиций, содержащих хитозан, к деструктивному воздействию микроскопических грибов	115
3.1.3. Оценка устойчивости полимеров, содержащих целлюлозу, к деструктивному воздействию микроскопических грибов	126
3.1.4. Изучение влияния крахмала на биоразлагаемость синтетических полимеров	128

3.2.	Оценка устойчивости полимерных материалов к деструктивному воздействию отдельных видов микромицетов-деструкторов и их ассоциаций в природных и лабораторных условиях	130
3.2.1.	Сравнительная оценка устойчивости к деструктивному воздействию грибов у полимерных материалов при испытаниях стандартным и модифицированным методами	130
3.2.2.	Выявление природных деструкторов полимерных композиций на основе природных и синтетических полимеров	133
3.2.3.	Исследование устойчивости ряда полимерных композиций к деструктивному действию стандартных и «диких» культур микромицетов	136
3.2.3.1.	Исследование устойчивости ряда полимерных композиций к деструктивному действию стандартных культур микромицетов	136
3.2.3.2.	Исследование устойчивости ряда полимерных композиций к деструктивному действию «диких» культур микромицетов	140
3.2.4.	Действие микромицетов на некоторые физико-механические свойства лакокрасочных и полимерных материалов	142
3.2.5.	Исследование устойчивости к действию микроскопических грибов полимерных материалов, подвергшихся воздействию абиотических факторов внешней среды	151
3.2.5.1.	Изменение способности служить источником питания для микромицетов у ряда полимерных материалов, подвергшихся действию абиотических факторов внешней среды	151
3.2.5.2.	Действие абиотических факторов внешней среды на биостойкость полимерных композиций с введёнными в их состав биоцидными присадками	163
3.2.5.3.	Действие абиотических факторов внешней среды на биоцидную активность химических соединений, использованных нами в качестве средств защиты материалов от биоповреждений	166
3.2.5.4.	Изучение влияния ряда абиотических факторов внешней среды на микромицеты – деструкторы полимерных материалов	170

3.2.6.	Исследование роли ряда экзогидролаз микромицетов в процессе деструкции полимерных композиций на основе природных и синтетических полимеров	176
3.2.6.1.	Исследование деструкции хитина микроскопическими грибами	176
3.2.6.2.	Исследование деструкции хитозана микроскопическими грибами	184
3.2.6.3.	Исследование амилазной и эстеразной активности у грибов – деструкторов сополимеров крахмала и полиметилакрилата	187
3.2.6.4.	Исследование роли экзохитозаназы микромицетов в процессе деструкции полимерных композиций на основе природных и синтетических полимеров	195
3.2.6.5.	Действие ряда химических соединений на хитозаназную активность <i>Aspergillus terreus</i>	201
3.2.6.6.	Действие высокой температуры на экзохитозаназу <i>A. terreus</i>	203
3.2.7.	Физиологические и биохимические аспекты действия ряда абиотических (физических) факторов на микромицеты-биодеструкторы	209
3.2.7.1.	Действие ультрафиолетового излучения на жизнедеятельность микромицетов-биодеструкторов	211
3.2.7.2.	Действие ультрафиолетового излучения на экзопероксидазы и экзокаталазы грибов <i>Alternaria alternata</i> и <i>Aspergillus niger</i>	223
3.2.7.3.	Действие низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты, миллиметрового диапазона (ЭМИ КВЧ) с различными частотно-волновыми характеристиками на жизнедеятельность микромицетов-биодеструкторов	228
3.2.7.4.	Действие ЭМИ КВЧ шумового спектра на экзопероксидазы и экзокаталазы грибов <i>Alternaria alternata</i> и <i>Aspergillus niger</i>	248
3.2.7.5.	Эффекты сочетанного действия физических и химических фунгицидных факторов	254
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	268
	ВЫВОДЫ	271
	ЛИТЕРАТУРА	274
	ПРИЛОЖЕНИЕ	303

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Огромное количество полимерных материалов и изделий из них применяется в настоящее время в различных областях деятельности человека. Пребывая в биосфере, материалы могут подвергаться негативным воздействиям различных микроорганизмов, главным образом микроскопических грибов (Анисимов, 1985; Дормидонтова и др., 2002; Premraj, Mukesh, 2005; Leja, Lewandowicz, 2010). За счет лабильности ферментативных систем, интенсивного размножения с помощью спор и гиф микромицеты способны быстро адаптироваться к различным материалам как к источникам питания, при этом повреждая материал, к условиям внешней среды и к средствам защиты. Кроме того, в процессе эксплуатации при воздействии различных факторов внешней среды биостойкость материалов может значительно снижаться; в результате таких воздействий происходит изменение основных физико-химических характеристик материала и его механическое и биологическое разрушение (Дрозд, 1995; Zammit et al., 2008; Aswin Kumar et al., 2011). В связи с этим подавляющее большинство промышленных и строительных материалов способно подвергаться биоповреждениям. Важным экологическим аспектом проблемы биоповреждений является вопрос ресурсосбережения и рационального природопользования, решение которого состоит в создании материалов, устойчивых к биологическим и климатическим воздействиям, защищенных от биоповреждений на длительный срок. С другой стороны существует проблема охраны окружающей среды от долгоживущих полимерных отходов, причиняющих природе непоправимый ущерб, – необходимо добиваться их скорейшей биоутилизации.

Выяснение видового состава микробных сообществ, осуществляющих процесс биodeградации, взаимосвязей в нем, а также изучение механизмов преобразования чужеродных веществ позволит понять и стимулировать процессы самоочищения в природных местообитаниях, создать эффективные системы микробной переработки промышленных и бытовых отходов и, в

конечном счете, позволит снизить антропогенное давление на природу (Нетрусов, 2013).

Проблеме биоповреждения материалов (видовому составу грибов-деструкторов, механизмам деструкции, изменению свойств материала, защите от микробиологических повреждений) посвящено огромное количество публикаций в отечественной и зарубежной литературе (Андреюк и др., 1980; Каневская, 1983; Иванов и др., 1984; Ильичев и др., 1984; Ильичев, 1987; Жиряева и др., 1991, 1992; Новикова, 1994; Розенталь, 1994; Соломатов, 2001; Ross, 1969; Booth, 1971; Pirt, 1980; Griffin, 1994; Chiellini, 2003; Bastioli, 2005; Smith, 2005; Platt, 2006).

Сдерживающим фактором работ в данной области, ограничивающим достоверность получаемых данных, является отсутствие сравнительных исследований процесса биоповреждения материалов как при действии различных абиотических факторов внешней среды (физических и химических), так и без них.

В процессе эксплуатации в естественных условиях полимерные материалы подвергаются воздействию факторов внешней среды – меняется их состав. Средства защиты, вводимые в состав полимера, также подвергаются воздействию факторов – меняется их эффективность. Микроорганизмы-деструкторы под влиянием внешних факторов способны изменять свою деструктивную активность.

Для защиты материалов и изделий от поражения микромицетами, а также для их уничтожения используется ряд физических факторов. Однако механизмы воздействия физических факторов на микромицеты-деструкторы и на полимерные материалы, которые они призваны защищать изучены пока недостаточно. Также мало изучены и особенности и закономерности комплексного воздействия биодеструкторов и небиологических факторов внешней среды на полимерные материалы.

Необходимо сосредоточить основное внимание исследователей на экологической составляющей проблемы биодеструкции: изучать не только зависимость биостойкости материала от его химического состава и начальные стадии биодеструкции, видовой состав, метаболические особенности и способность микроорганизмов заселять полимерные материалы; но и воздействие климатических факторов на материал и его отдельные компоненты, на жизнедеятельность микроорганизмов-деструкторов; воздействие климатических факторов на биоцидную активность препаратов, применяемых для защиты полимеров.

Вследствие отсутствия нового подхода к проблеме биоповреждений, который бы учитывал ее экологические аспекты, снижается эффективность прогнозирования, ранней диагностики и целенаправленной защиты полимерных материалов от микробиологических повреждений в естественных условиях эксплуатации.

Успешное решение данной проблемы может быть достигнуто комплексными исследованиями экологических закономерностей взаимодействия материалов с биодеструкторами и факторами внешней среды. Эти исследования позволят понять фундаментальные основы поведения и развития популяций микромицетов-деструкторов, предсказывать изменение их активности; обосновать научно-методические подходы к объективной, достоверной оценке и прогнозированию микробиологической стойкости материалов и изделий; будут способствовать разработке биостойких и биоутилизируемых материалов, эффективных средств и способов биозащиты, повышению качества жизни человека.

Цель работы: Теоретически обосновать и верифицировать комплексный подход к диагностике и прогнозированию процессов деструкции микромицетами полимерных материалов, основанный на учете воздействия абиотических факторов среды на всех участников биоповреждающего процесса.

Задачи исследования:

1. Исследовать возможность использования микроскопическими грибами в качестве источника питания синтетических и природных полимеров и их новых композиций. Выявить наиболее активных микромицетов-деструкторов.
2. Выявить среди грибов, заселяющих полимерные материалы, истинных деструкторов, способных использовать материал в качестве источника питания.
3. Исследовать влияние микромицетов – активных деструкторов на изменение физико-механических свойств полимерных материалов в процессе роста на них.
4. Изучить роль и влияние ряда абиотических факторов внешней среды (температура, влажность, электромагнитные излучения, воздействие химических соединений) на процесс деструкции различных полимеров микромицетами, эффективность средств защиты от биоповреждений, а также жизнедеятельность грибов – активных биодegradантов.
5. Исследовать возможность участия отдельных ферментов грибов в деструкции композиций на основе синтетических и природных полимеров.
6. Исследовать возможность регулирования процессов биодеструкции как путем модификации состава композиций на основе синтетических и природных полимеров в экспериментах, моделирующих естественные условия их эксплуатации, так и путем воздействия некоторых абиотических факторов среды (ультрафиолетовое и миллиметровое электромагнитные излучения и их сочетанное действие совместно с химическими соединениями, обладающими биоцидным эффектом).

Научная новизна. Впервые проведено комплексное исследование возможностей вовлечения в трофические цепи почвенных микромицетов и объяснено наличие биостойких свойств у 15 синтетических полимерных материалов и их ингредиентов, широко используемых в отечественной промышленности и медицине, и 18 синтезированных полимерных композиций на основе различных природных и синтетических полимеров (хитозана, крахмала, целлюлозы, акрилатов, виниловых мономеров) в условиях воздействия абиотических факторов.

Выявлены и теоретически обоснованы особенности заселения микромицетами полимерных материалов в лабораторных и природных условиях. Показано, что среди микромицетов, заселяющих полимерный материал, имеются виды-стенофаги и случайные виды; установлены ингредиенты полимерных композиций (аммиачный комплекс кобальта, персульфат аммония, алкилдиметилбензиламмоний хлорид, производные бензтиазола), способные ингибировать жизнедеятельность микромицетов-деструкторов.

В лабораторных условиях исследовано влияние роста грибов на физико-механические свойства: эмульсии Акрэмос-203 Б; привитых сополимеров акрилонитрила на хитозан; бумаги, обработанной смесью хитозана и полиакрилового флокулянта; привитых сополимеров натрий-карбоксиметилцеллюлозы с метилакрилатом и блок-сополимеров натрий-карбоксиметилцеллюлоза – метилакрилат. Установлено, что уже на стадии формирования вегетативного мицелия на полимерных пленках и бумаге наблюдается снижение таких показателей как твердость пленки, разрушающее напряжение, относительное удлинение, характеристическая вязкость, прочность, деформация, обосновано использование данных показателей в качестве критериев ранней экспресс-диагностики процесса биоповреждения.

Впервые показано, что степень воздействия факторов климатического старения на полимерные материалы и биоцидные добавки по-разному меняет

их устойчивость к действию микромицетов: у материалов снижается биостойкость, у биоцидных добавок фунгицидные свойства могут как снижаться, так и возрастать.

Показано, что действие высокой температуры и ультрафиолетового излучения повышает способность исследуемых материалов к биодеструкции.

Определены основные оптимальные экологические условия (влажность 98%, температура 30°C), обеспечивающие наибольшую деструктивную активность плесневых грибов.

У грибов – активных деструкторов показана роль экзоэстеразы и экзохитозаназы в процессе разрушения ими полимерных материалов, дано объяснение данного факта с позиций концепции микробного катаболизма.

Показано, что в составе сополимеров природные полимеры утилизируются значительно легче, чем синтетические субстраты, что особенно хорошо заметно на мало разлагаемых композициях. Дано объяснение этому явлению с позиций химического строения субстратов, а также диауксического роста на них микромицетов.

Впервые изучено влияние КВЧ-излучения на рост мицелия, выживаемость спор, экзопероксидазную и экзокаталазную активность у микромицетов-деструкторов.

Выявлен сочетанный биоцидный эффект от совместного воздействия ультрафиолетового и миллиметрового излучений и полигексаметиленгуанидин гидрохлорида, алкилдиметилбензиламмоний хлорида, гипохлорида натрия на микромицеты-деструкторы, предложено объяснение вероятного механизма данного эффекта.

Разработан и обоснован подход, применяющий экологическую диагностику для прогнозирования эксплуатационных возможностей и защиты от биоповреждений полимерных материалов.

Теоретическая значимость работы. Получены новые знания, расширяющие представления о начальных механизмах деструкции полимерных композиций в естественных условиях их эксплуатации. Сформулирован, теоретически обоснован и экспериментально подтвержден новый комплексный подход к проблеме регулирования биостойкости полимерных материалов. Получены новые знания о биологических эффектах воздействия низкоинтенсивных электромагнитных волн (КВЧ) на микроскопические грибы.

Практическая значимость работы

- Выявлены устойчивые к действию грибов материалы (компаунд ЭЗК-6, клей-мастика ГИПК-23-12, стеклотекстолит СТЭФ-1, блок-сополимер ХТЗ-МА – солевая форма, композиция ПВХ : ХТЗ (1:0,1) и композиции ПВХ с целлюлозой) и материалы, легко биоутилизируемые (клей «Лейконат», герметик УТ-34, пластик АБС-2020-31, полистирол УПС-825Д, гетерополимерные композиции хитозана с поливинилпирролидоном и поливинилспиртом, привитые сополимеры акрилонитрила на хитозан, блок-сополимеры хитозана с крахмалом и полиакриламидом, модифицированные хитозаном образцы бумаги, сополимеры крахмала и полиметилакрилата).
- Разработан алгоритм получения полимерных материалов с регулируемой биостойкостью. На основе алгоритма разработаны рекомендации по созданию биостойких полимерных композиций, позволяющие существенным образом расширить эксплуатационные возможности полимерных материалов и продлить их сроки эксплуатации в различных климатических зонах.
- Разработаны рекомендации по совершенствованию стандартных методов испытаний на грибостойкость с целью получения более объективных данных. Результаты работы востребованы Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии, Минобороны и Минпромторгом Российской Федерации; ОАО «Завод

им. Г.И. Петровского», ОАО «НПП «Полёт», а также научными и учебными учреждениями, связанными с проблемой разработки новых биостойких материалов и их испытаниями в натурных условиях эксплуатации, либо занимающимися вопросами ликвидации техногенных образований и отходов.

- Результаты работы могут быть использованы для разработки строительных норм и правил для организаций, занимающихся проектированием и возведением сооружений и конструкций, устойчивых к воздействию биологических факторов.
- Полученные теоретические данные используются в учебном процессе на кафедре биохимии и физиологии растений биологического факультета ННГУ им. Н.И. Лобачевского в лекциях по курсу «Экологическая биотехнология».

Основные положения, выносимые на защиту

1. Полимерная композиция является эмерджентной системой с особыми свойствами, не всегда присущими её компонентам, поэтому ее биостойкие свойства невозможно предсказать на основе знания свойств ее ингредиентов и взаимодействий между ними, рассматриваемых изолированно.
2. Критерием отнесения микромицетов, присутствующих в составе микробного ценоза на поверхности полимерного материала, к истинным деструкторам является установление факта стенофагии по отношению к полимеру.
3. В качестве способа ранней экспресс-диагностики устойчивости полимерных материалов к биodeградации целесообразно использовать измерение физико-механических свойств материалов, проводимое на стадии формирования вегетативного мицелия микромицетов-деструкторов.
4. Установление и последующее исключение микробного антагонизма среди используемых тест-культур является необходимым элементом

корректировки существующих стандартных методов испытания полимерных материалов на устойчивость к биодеструкции.

5. Абиотические факторы внешней среды способны влиять не только на биостойкость полимерных композиций и жизнедеятельность микромицетов-деструкторов, но и изменять биоцидную активность используемых средств защиты, в связи с чем необходим комплексный учет действия факторов внешней среды на всех участников процесса биоповреждения (материал, биодеструктор, средства защиты).

Апробация работы и публикации. Основные положения диссертации доложены на всероссийской научно-практической конференции «Экологические проблемы биodeградации промышленных, строительных материалов и отходов производств» (Пенза, 2000); I международном конгрессе «Биотехнология – состояние и перспективы развития» (Москва, 2002); V международной научно-практической конференции «Современные проблемы биологических повреждений материалов (Биоповреждения – 2002)» (Пенза, 2002); VII международной конференции «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана» (Санкт-Петербург, 2003); международной научно-технической конференции «Актуальные вопросы строительства» (Саранск, 2004); II международной научно-технической конференции «Биоповреждения и биокоррозия в строительстве» (Саранск, 2006); IV международной научно-практической конференции «Научни дни – 2008» (София, 2008); 5-м съезде Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова (Москва, 2008); V международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2009); международной научно-практической конференции «Биотехнология: экология крупных городов» (Москва, 2010); VII международной научно-практической конференции «Perspektywiczne opracowania sa nauka i technikami» (Lodz, 2011); 5-м международном научно-практическом симпозиуме «Природные условия строительства и сохранения храмов православной Руси» (Нижний Новгород,

2012); VIII международной научно-практической конференции «Найновите постижения на европейската наука – 2012» (София, 2012); третьем съезде микологов России (Москва, 2012); VII международном конгрессе «Биотехнология: Состояние и перспективы развития» (Москва, 2013); международной научно-практической конференции «Биотехнология и качество жизни» (Москва, 2014).

По материалам диссертации опубликовано 88 работ, из них 17 в изданиях, рекомендованных ВАК.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Экологические и физиолого-биохимические особенности микроскопических грибов – деструкторов полимерных материалов

Особенности экологии микроорганизмов определяются их преимущественно химическим взаимодействием со средой обитания. Обладая высокой химической активностью, микроорганизмы участвуют в процессах деструкции и минерализации органического вещества как природного, так и антропогенного происхождения.

Особую актуальность разрушающая способность микроорганизмов приобрела в последние десятилетия в связи с накоплением в биосфере устойчивых загрязнителей антропогенного происхождения, причем нередко в масштабах, превышающих природную самоочищающую способность. Человек создал такие соединения, которые не разрушаются в природе в обычных условиях, – синтетические полимеры, красители, пестициды и т.д. (Нетрусов, 2013).

Среди всех видов биоповреждений наиболее часто встречаются микробиологические. По данным мировой статистики прошлых лет, на их долю приходится до 20% от общего числа биоповреждений; несомненно, за последние годы она существенно увеличилась (Thomas, 1968; Дмитриев, Власов, 2009).

Основными возбудителями микробиологических повреждений являются микромицеты (от греч. *mikros* – маленький и *mykes* – гриб, – грибы микроскопических размеров), прежде всего представители класса дейтеромицетов (Горленко, 1979; Андреюк и др., 1980; Кондратюк и др., 1986; Ребрикова и др., 1995; Coretzki, 1988; Fraderio. et.al., 1992; Ronay, 1991). Наибольшее количество биоразрушителей относится к родам *Geotrichum*, *Scopulariopsis*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Paecilomyces*,

Penicillium, Trichoderma (Билай, 1986). Объектами их воздействия могут быть самые разнообразные по химическому составу и свойствам вещества (Коваль, Сидоренко, 1989). Широкому распространению микромицетов как в природе, так и среди возбудителей повреждений способствуют их свойства адаптироваться в экстремальных условиях, в условиях освоения антропогенных субстратов (Jaenicke, 1981). Этому способствует и их быстрый рост, интенсивный способ размножения и распространения, высокоэффективная ферментативная система, лабильный метаболизм (Тітрак, 1970; Павлова и др., 1992). Всегда находятся микроорганизмы, способные расти в экстремальных условиях и образующие специфические антропогенные биоценозы (Нетрусов, 2013).

Такие свойства грибов свидетельствуют о сложности деструктивных процессов, о мультифункциональности грибов, проявляющейся в зависимости от условий, делают невозможным получение биостойких материалов на длительное время, равно как и унифицированных средств защиты. Следует учитывать, что в биоповреждающем процессе, как правило, участвуют не один, а многие виды грибов одновременно (в том числе и систематически далекие), в результате чего может возникнуть качественно новый биоповреждающий агент (Сухаревич и др., 2009).

Гифа — наиболее характерная морфологическая структура микромицетов. Она представляет собой цилиндрическую трубочку, имеющую обычно 5 – 10 мкм в поперечнике. В оболочке гифы заключена многоядерная протоплазма, которая непрерывно образует новые клетки на конце.

Клетки грибов эукариотического типа. Они состоят из оболочки, цитоплазмы, цитоплазматической мембраны, митохондрий, рибосом, включений, вакуолей и ядер, которые находятся во вторичных носителях. Растущие гифы ветвятся ниже верхушки, цитоплазма непрерывно поступает к молодому апексу. Клетки гиф неоднородны в отношении возраста и физиологической активности: у молодых содержится много цитоплазмы,

митохондрий, РНК, у старых – много вакуолей, липидов. Система гиф образует мицелий.

Для грибов характерны следующие способы размножения: половое, вегетативное, бесполое (Билай, 1986).

Большинство грибов, вызывающих повреждение и коррозию, обладают огромной энергией размножения. Многие из них размножаются спорами (конидиями), образующимися в количестве, исчисляемом сотнями тысяч и миллионами на малую поверхность субстрата. Они способны распространяться потоком воздуха, оседать на частицах органической и минеральной пыли, а затем на различных поверхностях. При малых размерах (до 10мкм) эти споры весьма устойчивы и длительное время могут сохраняться жизнеспособными в неблагоприятных условиях.

Деструкция подавляющего большинства материалов органической природы объясняется способностью микроорганизмов использовать материал в целом или его отдельные компоненты в качестве источника углерода и энергии. Это относится как к материалам природного происхождения, так и к синтетическим материалам (Дзумедзей и др., 1994).

На процесс биоразрушения влияет целый ряд факторов. Во-первых, необходимо присутствие микроорганизма, способного к преобразованию данного соединения. Во-вторых, требуется ряд условий для проявления соответствующей активности (Нетрусов, 2013). Рост микромицетов на материалах определяется, с одной стороны, попаданием на материал жизнеспособных спор грибов, с другой стороны, абиотическими факторами — наличием условий для их прорастания и последующего развития (Сергеева, 1994).

На рост грибов и их физиологическую активность влияют многие факторы внешней среды: температура, кислотность, степень аэробности, свет влажность, давление и др.

Температура один из главных факторов в распространении, регуляции роста и физиологической активности грибов. Большинство их видов растет

при температуре в пределах 18 – 25° С. По отношению к температуре грибы разделяются на психрофильные, растущие при температуре от –3 до +10° С, мезофильные, растущие при температуре 10 – 50° С и выше. Оптимальная температура для различных видов грибов неодинакова. Например, виды рода *Aspergillus* являются более теплолюбивыми по сравнению с типичными представителями мезофильных и психрофильных видов рода *Penicillium*.

Свет воздействует на рост мицелия, спорообразование, метаболические, морфогенетические и другие процессы грибов. Чередование освещения и темноты стимулирует рост и спорообразование у многих грибов, причем влияние роста разного спектрального состава неодинаково.

Кислотность среды также имеет большое значение для процессов жизнедеятельности грибов. Различают минимальное, оптимальное и максимальное значение рН для роста, спорообразования и физиологической активности грибов. Оптимальным значением реакции среды для большинства грибов является рН 4,0 – 5,0; т.е. кислая реакция среды, однако некоторые из них предпочитают щелочную среду.

Рост и развитие грибов зависят также от концентрации веществ в растворах, которая создает определенное давление среды. Если оно не уравновешено с давлением внутри гифы, нарушаются процессы жизнедеятельности.

Отношение к кислороду и углекислому газу у различных видов грибов разное. Хотя среди грибов неизвестны облигатные анаэробы, многие из которых могут расти и спороносить при пониженном содержании кислорода в среде. Значительно число видов устойчивы к повышенному уровню углекислоты в определенных микоценозах почвы.

Основным же фактором, способствующим развитию грибов на материале или конструкции, служит вода. Её содержание в полимере является одним из решающих факторов предельного накопления биомассы и скорости роста на полимерном материале. Грибы начинают развиваться при влажности выше 75%. Оптимум влажности для грибов – 90% и выше. Однако

известны случаи, когда споры грибов выдерживали высушивание в течение 20 лет, замораживание при температуре жидкого азота – 190° С в течение полугода, после чего в благоприятных условиях они прорастали (Каравайко, 1976; Горленко, 1981). Большое значение для роста грибов на конструкциях и изделиях имеет наличие влаги на поверхности субстрата. Если материал имеет незначительную влажность, то сначала появляются менее требовательные к влажности грибы, а уже затем – более влаголюбивые виды или грибы, для которых первые микромицеты являются питательной средой. Влага может вноситься за счет самих микробных клеток, которые содержат ее 80% и более. Необходимо упомянуть и о группе тонофильных грибов, способных разрушать сухие субстраты при высокой влажности окружающей среды (Билай, Коваль, 1978; Защита от коррозии..., 1987).

Рост отдельных видов грибов могут стимулировать воздушные среды, содержащие аммиак, углекислоту, этанол и другие соединения (Панкратов, 1971). Облучение микромицетов потоком гамма-излучения малых мощностей (1 – 76 рад/ч) сопровождается возрастанием их продуктивности, а также появлением мутантов со сдвигом обмена веществ в сторону повышения агрессивности (Садаускас и др., 1987).

Живые организмы являются функцией биосферы и связаны с ней материально и энергетически. В экологическом аспекте биоповреждения представляют собой естественный процесс, протекающий в общем круговороте веществ, который на время приостанавливает человек с помощью разных средств. В результате биоповреждений снижается ценность материалов или нарушается процесс эксплуатации, принося экономический ущерб (Дормидонтова, 2003). В биологическом плане за рабочую гипотезу принята формулировка: сфера развития организмов в условиях хранения, использования и переработки материалов и изделий составляет в зоне адаптации организмов экологическую нишу антропогенного характера, которая эволюционирует, в пределах обозримых промежутков времени (Нюкша, 2002).

Процессы биоповреждений не только испытывают влияния со стороны окружающей среды, но и в свою очередь влияют на нее, меняя все находящееся в ближайшем окружении. Сам по себе объект, созданный человеком и внесенный им в окружающую среду, является мощным экологическим фактором, который в одних случаях активно используется организмами, в других — действует на них отрицательно, в третьих — косвенно открывает для них новые возможности в отношении местообитаний и расселения.

Во всех этих случаях атакующий объект организм меняет свойства и добавляет новые, важные в экологическом отношении качества, одновременно выполняя роль своеобразного проводника, вводящего этот объект в биоценотические цепи, существующие в природе или вновь возникающие под влиянием деятельности человека.

Тесные связи биоповреждающих процессов с окружающей средой проявляются в том, что объекты, будучи внесенными человеком в природу, включаются в естественные биоценозы чаще всего с помощью атакующих их организмов, которые связаны с другими членами биоценоза и тем самым предоставляют имеющиеся в их распоряжении сложившиеся контакты вновь рекрутированным членам, ими же «приведенным». В других случаях вокруг объекта и атакующего его организма складывается новый, искусственный биоценоз с новыми биоценотическими связями и взаимоотношениями, в этом случае решающим фактором будут экологическая «полезность» объекта, возможность его использования организмами в экологических целях.

Процесс биоповреждения созданных человеком материалов (в том числе и полимерных) имеет свои аналоги (экологические прототипы в окружающей среде). Ключевым в процессе биоповреждения является принцип экологического подобия созданного человеком материала природному (Ильичев, 1985).

В тоже время нельзя не учитывать того, что существование антропогенного фактора в виде человека и результатов его деятельности

является необходимым условием биоповреждений как явления. Необходимо всегда помнить, что к проблеме биоповреждений имеет отношение только та его часть, которая уже добыта, складирована и в какой-то степени обработана, т. е. включена в производство. Если же оценивать роль антропогенного фактора в возникновении и развитии биоповреждающего процесса более конкретно, то человек фиксирует начало и конец воздействия живых организмов на объект, который он сам производит и вносит в природу, а затем по мере необходимости удаляет из нее. И в то же время он может сдвинуть начало биоповреждающего процесса, используя для этой цели специальные защитные средства. Ограничив или сняв вообще действие защитных средств, человек в состоянии открыть дорогу биоповреждающему воздействию, сделав объект доступным для организмов.

Не менее важными и существенными для понимания роли антропогенного фактора в возникновении биоповреждений являются функции, регулирующие биоповреждающий процесс, меняющие его силу, ускоряющие или замедляющие его, вплоть до временной остановки. Этими возможностями человек также располагает, имея в своем распоряжении все те же защитные средства.

Таким образом, биоповреждение — это одновременно и экологическое, и антропогенно-технологическое явление. Именно это принципиально важное положение составляет основу эколого-технологической концепции биоповреждений (Ильичев, 1987), основные положения которой сводятся к ниже описанному.

Биоповреждение возникает и существует в результате взаимоотношения двух начал; одного, связанного с экологическими факторами, другого — с антропогенно-технологическими.

Человек в результате своей деятельности меняет окружающую среду, заполняя ее изделиями своих рук и, невольно не желая того, провоцирует биоповреждения. Активно включаясь в этот процесс, он в одних случаях регулирует его, в других — допускает его стихийное протекание, в третьих

— лишь частично оказывает на него влияние, стремясь уменьшить наносимый организмами ущерб, сократить материальные потери.

Экологические и антропогенно-технологические компоненты при этом настолько тесно взаимодействуют друг с другом, взаимопроникают друг в друга, что их невозможно рассматривать изолированно как альтернативную причину возникновения биоповреждений.

Учитывая двойственную природу биоповреждений, эколого-технологическая концепция акцентирует внимание на следующих важных явлениях, сопутствующих их возникновению и протеканию:

1. Состав повреждаемых объектов постоянно меняется так же, как перечень повреждающих их видов. Одни из них становятся индифферентными по мере того, как исчезают объекты их нападения, тогда как другие, напротив, обнаружив новый, экологически полезный для них объект, активно нападают на него;

2. В силу ситуативных факторов в каждый данный момент биоповреждающие свойства проявляют лишь отдельные популяции вида, тогда как другие могут оставаться индифферентными;

3. Важным условием проявления биоповреждающих свойств является окружающая среда во всем многообразии экологических факторов.

К основным экологическим аспектам микодеструкции относятся:

- состав субстрата;
- влияние окружающей среды на деструктора (экология микодеструктора);
- влияние окружающей среды на материал (экология субстрата);
- антагонизм между грибами, развивающимися на материалах.

Бурное развитие техники, освоение необжитых территорий, активное градостроительство, создание новых материалов сделали проблему биоповреждений одной из наиболее актуальных научно-практических проблем. Освоение микроорганизмами созданных человеком материалов,

которые не имеют аналогов в природе, встраивание в окружающую среду промышленных отходов активизирует биодеструкторов в биосфере, это приводит к тому, что на полезный, хозяйственно нужный материал нападают все более адаптированные микроорганизмы.

Проблема защиты от биоповреждений требует комплексного решения. Она является частью биосферных программ, поскольку создаваемые человеком материалы и изделия становятся частью биосферы. Это проблемы не только сегодняшнего, но и завтрашнего дня, ибо, создавая новые материалы и изделия, мы должны учитывать, как они будут работать завтра, как их будут разрушать живые организмы, как к ним будет относиться биосфера. Мы должны думать об экологическом «иммунитете» того, что создаем.

Биоповреждения материалов, изделий и оборудования есть не что иное, как реакция биосферы на новые субстраты, создаваемые человеком и включающиеся в сложные процессы, которые происходят в самой биосфере. Всё большее количество материалов подвергается воздействию микроорганизмов, которые широко распространены в природе на органических субстратах, в почве, сточных водах и т. д. Способность колонизировать различные субстраты (целлюлозные материалы, синтетические полимеры, нефтепродукты и т. д.) характерна для представителей родов *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Penicillium*, обычно живущих в почве как сапрофиты. Это свидетельствует о том, что микроскопические грибы, попадая из почвы или атмосферы на различные материалы, могут в процессе эволюции адаптироваться к ним и вызывать их повреждение (Каневская, 1984).

В структуру биоповреждений входят интактные клетки грибов, дрожжей, бактерий, споры, мёртвые клетки микроорганизмов, продукты распада клеток и различные вещества неорганической природы (Герасимов и др., 1995). Следует полагать, что разрушение материалов происходит не одной какой-либо группой, а всем комплексом микроорганизмов. Одна

группа микроорганизмов своей деятельностью подготавливает субстрат для другой (Багданавичене и др., 1979).

Освоение микроорганизмами создаваемых человеком материалов, которые не имеют аналогов в природе, встраивание в окружающую среду промышленных отходов активизирует включение биодеструкторов в биосферу. Это приводит к тому, что на полезный хозяйственно нужный материал или конструкцию нападают все более «натренированные» организмы (Дергунова и др., 2009). В настоящее время трудно найти группу материалов, на которую микромицеты не оказывают разрушающего воздействия или, по меньшей мере, не изменяют их свойств и внешнего вида.

При классификации биологических повреждений материалы подразделяют по морфологическим признакам и изменению свойств.

К группе морфологических признаков проявления биоповреждений относят:

- обрастание поверхности мицелием грибов, появление окрашенных пятен;
- появление язв, каверн, и трещин на поверхности материала;

К группе признаков биоповреждений по изменению свойств материалов относят:

- изменение физико-механических свойств материалов, например потеря прочности древесины, резины, пластиков, под действием микромицетов или их метаболитов;
 - ухудшение электрофизических свойств, например снижение электроизоляционных свойств материалов;
 - изменение оптических свойств, например, опалесценция и потеря прозрачности стёкол оптических приборов, протравленных метаболитами грибов;
 - изменение химических свойств материалов в результате окисления или гидролиза пластификаторов в пластиках, целлюлозы в древесине.
- (Ильичёв, 1987)

Первые сведения о процессах микробной деградации синтетических полимеров начали появляться в 1978 г. Были обнаружены микроорганизмы способные к биодegradации полиуретанового полиэстра, полиэтилена, полиэтиленгликоля, полистирена, поливинилспирта, нейлона 3 и нейлона 6. Полимеры превращались в олигомерные молекулы без чёткой структуры. Процессы деградации могут значительно совершенствоваться за счёт ускоренной эволюции микробных агентов при непрерывном культивировании. Совместное окисление полимеров с другим субстратом, например метаном, метанооксиляющими бактериями — один из простейших способов биодegradации. Нерастворимость полимеров в воде представляет собой серьёзный барьер для микробных атак (Хиггинс, 1988).

Одним из важнейших направлений проблемы биоповреждений является исследование видового и численного состава микобиоты, изучение экологических и физиолого-биохимических особенностей деструкторов (Смирнова, 2000).

Видовое разнообразие микодеструкторов полимерных материалов, прежде всего, определяется физиолого-биохимическими особенностями грибов, т. е. наличием в организме специфических метаболических процессов, позволяющих утилизировать те или иные компоненты поражаемых материалов. Таким образом, зная ингредиенты материалов, используемых микромицетами как источник питания, можно предопределить состав их агрессивных метаболитов, определить механизмы и пути процесса биоповреждений полимеров различного химического состава. Агрессивные метаболиты грибов — это, главным образом, ферменты и органические кислоты. Большое значение при возникновении биоповреждений имеют выделяющиеся в окружающую среду экзоферменты (Смирнов и др., 1995). При этом имеется чёткое соответствие между категорией поражаемого материала и ферментативными свойствами присутствующей на нём микрофлоры (Благник и др., 1965).

Повреждение грибами начинается, как правило, с небольших участков. Даже на биостойких материалах могут наблюдаться мелкие колонии мицелиальных грибов, поселившихся на загрязнениях биологического происхождения. Особенно благоприятны для роста микромицетов условия повышенной влажности и затруднённого воздухообмена, нередко создающиеся при эксплуатации различного оборудования в закрытых помещениях. В этом случае рост грибов не прекращается до полного истощения источника питания, после чего погибшая колония служит источником питания для других микроорганизмов (Соломатов и др., 2001).

Грибы встречаются при высоких (Билай, 1979;) и низких температурах (Коваль, Михтенштейн, 1981), во льдах Арктики и высоких слоях атмосферы (Kusher, 1980; Абызов, 1982). Например, конидии *Aspergillus fumigatus* не погибают при колебаниях температуры от -32°C до $+80^{\circ}\text{C}$, а грибы *Aspergillus penicilloides* и *Aspergillus glaucus* var. *tonophilis* способны расти на твёрдых субстратах за счёт атмосферного увлажнения.

В результате изучения толерантных и осмофильных свойств мезофильных, факультативно-термофильных и термофильных микромицетов из различных таксономических групп (*Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Humicola*, *Thermomyces*) обнаружены штаммы, обладающие высокой инвертазной активностью, способные расти и развиваться на средах, содержащих 20, 30, 40 и более % сахарозы (Кириллова, 1997).

Авторами Savitha J., Subramanian C. V. (1995) изучена способность роста *Aspergillus flavipes* на среде с сырой нефтью в качестве единственного источника углерода.

Широкое распространение грибов в биосфере земли происходит благодаря их биологическим особенностям: 1) наличию мицелиальной структуры таллома, обеспечивающей высокую степень контакта со средой; 2) значительной скорости роста и размножения; 3) высокой активности метаболизма, проявляющейся в широком интервале действия различных

экологических факторов; 4) большой генетической и биохимической изменчивости, позволяющей грибам быстро адаптироваться к изменяющимся условиям среды обитания; 5) способности быстро реагировать на действие неблагоприятных факторов среды переходом к анабиозу и также быстро переходить к активной жизнедеятельности в благоприятных условиях (Идессис, 1976; Ильичев, 1994).

Грибы, относящиеся к р.р. *Absidia*, *Cunninghamella*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Zygorhynchus*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Verticillium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Stachybotrys*, *Chaetomium* были выделены из почвы, загрязненной Al^{3+} в концентрациях 76,5–540 мкг/кг, а также Pb, Cu, Cd, As (Simonovicova et al., 1996).

Park Jong-Chul et al. (1996) проведена количественная оценка адаптации *Aspergillus niger* к кислым условиям. Рост гиф ингибировался в кислой среде ($pH \leq 2,4$). Гифы возобновляли рост через 30 минут при постоянной экспозиции при pH 2,4 и 2,2, но рост не возобновлялся при pH 2,0. Рост гиф сохранялся даже при более низких pH, если понижение pH среды происходило постепенно до pH 1,4. Эта адаптация гиф происходила в течение 20 минут экспонирования в кислой среде, но утрачивалась в течение последующего 30-60 минутного отмывания в среде с pH 5,1.

На российском сегменте МКС в период 2002–2012гг. на поверхностях конструкционных материалов было выделено 42 вида грибов из 16 родов. Самыми распространенными были *Rhodotororula* sp. и *Penicillium chrysogenum*, довольно часто встречались *Aspergillus versicolor*, *A. niger*, *A. sydowii*, *A. flavus*, *P. aurantiogriseum* (Алехова и др., 2012).

Важной особенностью плесневых грибов является гетерогенность вида, т. е. наличие внутри вида штаммов, различающихся по морфологическим, физиологическим, экологическим и другим признакам. Примером может служить *A. niger*. У него известен криофильный штамм,

развивающийся при температуре 5–15 °С, тогда как обычно *A. niger* растет при достаточно высоких температурах. Исследователями Т.П. Сизовой и Е.Н. Бабьевой (1983) показано, что у штаммов *P. nigricans* из южных районов земного шара оптимальная температура роста была 25 °С, а у северных штаммов того же вида –18 °С. Бразильский штамм лучше всего рос при 37 °С.

Грибы — очень вариабельная и подвижная в экологическом отношении группа организмов. Один из механизмов изменчивости грибов — гетерокариоз. В зависимости от условий среды число ядер того или иного типа может варьировать в гетерокариотическом мицелии, обеспечивая этим приспособленность гриба к возникающим условиям. Это свойство грибов имеет особое значение в связи с непрерывным созданием новых материалов и возникновением новых искусственно создаваемых биотопов (Звягинцев, 1973).

Адаптация микроорганизмов по Карасевичу (1975) в самой общей форме может выражать два типа реакции организма:

1. Реализация потенциальных возможностей организма при изменении условий окружающей среды. Этот тип адаптации предполагает наличие определенных механизмов, позволяющих организму внешне целесообразно изменять обмен веществ или считывание генетической информации при изменении условий окружающей среды. В таких случаях адаптация наступает без изменения количества и качества имеющейся генетической информации, т. е. без изменения наследственности данного организма, такой тип адаптации обычно называют физиологическим. Особенно ярко он выражен у микромицетов, обладающих сильным ферментативным аппаратом.

2. Способность целесообразно реагировать на изменения окружающих условий. Этот тип адаптации возможен только в результате изменения количества и качества генетической информации, т. е. в результате стойкого изменения генотипа.

У некоторых представителей родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Chaetomium* при развитии на полимерных материалах отмечено укрупнение отдельных элементов конидиального аппарата (конидиеносцы, метулы, конидии, сумки). Эти особенности микромицетов можно рассматривать как ответную реакцию на неспецифический субстрат и учитывать при идентификации грибов, развивающихся на материалах синтетического происхождения (Звягинцев, 1985).

Об изменении формы плодовых органов, о появлении на поверхности мицелия грибов, поражающих синтетические полимеры, своеобразных новообразований, говорится в работах Лугаускаса (1979, 1983), который считает, что последние сохраняют потенциальную возможность гриба существовать и размножаться в новых необычных условиях.

В настоящее время в Каневском заповеднике (Украина) известно 1120 видов грибов, относящихся к 37 порядкам, 286 родам и 7 классам, из них к микромицетам относится 68,2 % (Пруденко, Соломахина, 1996).

В Австрии проводились исследования концентрации и видового состава плесеней и их спор, содержащихся в воздухе и пыли жилых помещений 29 домов, в которых проживают аллергические больные и здоровые. Как внутри, так и вне жилых помещений в воздухе доминировали *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *Epicoccus nigrum*. В кухнях и спальнях также обнаружен ряд представителей *Aspergillus* и *Penicillium* (Ostrowski et al., 1997).

На ивановской ткацкой фабрике выявлены распространенные на волокнах хлопка грибы родов *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Alternaria* и показано, что продукты жизнедеятельности микроорганизмов могут вызывать легочные и кожные заболевания работников текстильных предприятий. Установлено также, что микроорганизмы отрицательно влияют на разрывное усилие и длину хлопкового волокна (Евсеева и др., 1996).

И.Г. Каневской (1984) проведено микологическое обследование приборов и изделий, находящихся на длительном хранении на складах в

некоторых климатических зонах СССР. Установлено, что в районе с влажным субарктическим климатом на таких материалах, как лакокрасочные покрытия, пластмассы, резины и изоляционные материалы преобладают следующие виды грибов: *Mucor racemosus*, *P. chrysogenum*, *P. cyclopium*, *P. funiculosum*, *P. lanosum*, *P. lanoso-viride*, *P. notatum* и *Trichoderma viride*. В районе с влажным холодно-умеренным климатом на вышеперечисленных материалах развивались преимущественно *Alternaria alternata*, *Mucor racemosus*, *P. camembertii*, *P. chrysogenum*, *P. cyclopium*, *P. lanoso-viride*, *P. terrestre* и *Trichoderma lignorum*. В районе с засушливым умеренным климатом на обследованных материалах, находящихся в хранилищах, чаще всего встречаются следующие виды: *Alternaria alternata*, *A. niger*, *A. ustus*, *A. versicolor*, *Chaetomium globosum* и *Trichoderma lignorum*.

По данным исследователей в Венгрии на лакокрасочных материалах в наибольших количествах с частотой встречаемости 100% были обнаружены микромицеты: *A. niger*, *A. ustus*, *Chaetomium globosum*, *Corvularia lunata* (Saad, 1992).

На поверхности лакокрасочных покрытий, прошедших атмосферные испытания в разных областях Франции в зависимости от типа атмосферы (сельской, городской) и сезона отбора испытываемых образцов (осень, зима или весна), чаще всего присутствовали грибы семейства *Alternaria*, *Epicoccum*, *Trichoderma* (Beulon, 1990).

По данным Лугаускаса (1988), в условиях Прибалтики наиболее широко распространенным родом плесневых грибов в почвах и на других природных субстратах является *Penicillium*. Особенно активные штаммы, встречающиеся на различных синтетических материалах, отмечены среди представителей *P. funiculosum* и *P. purpurogenum*.

Для изучения наиболее полного видового разнообразия микромицетов, развивающихся на полимерных материалах, было проведено обследование с последующим микологическим анализом ряда полимеров в условиях микологических площадок в зонах с влажным субарктическим, влажным

холодно-умеренным, засушливым умеренным и влажным субтропическим климатом. Наибольшее видовое разнообразие микромицетов отмечено на полимерных материалах в условиях влажного субтропического климата. Основная масса выделенных грибов представлена видами родов *Aspergillus*, *Penicillium* и семейством *Dematiaceae*. В зоне с влажным субарктическим климатом на полимерах преимущественно встречаются представители рода *Penicillium* и почти полностью отсутствуют виды рода *Aspergillus* и семейства *Dematiaceae*. В условиях влажного холодно-умеренного климата на исследуемых объектах отмечены как представители родов *Aspergillus* и *Penicillium*, так и ряд видов сем. *Dematiaceae*. Видовой состав грибов, выделенных с полимерных материалов в зоне с засушливым умеренным климатом, характеризуется снижением количества видов грибов рода *Penicillium* по сравнению с видовым составом грибов в остальных зонах (Каневская, 1984).

Состав ценоза микроорганизмов определяется не только природой субстрата, но и набором таких факторов, как условия хранения и производства изделий и оборудования, наличие и характер атмосферных и промышленных загрязнений, микофлора воздуха и почвы данного района. Эти факторы определяют и степень адаптации повреждающих микроорганизмов к тому или иному субстрату.

Различают три вида воздействия микромицетов на полимерные материалы:

1. Механическое воздействие гиф гриба;
2. Действие продуктов метаболизма (органических кислот, ферментов, аминокислот, пигментов) на основные физико-химические и технологические свойства материалов (Веселов и др., 1989);
3. Биозагрязнения полимерных материалов и изделий из них (Анисимов, Смирнов, 1980).

Микроорганизмы могут преобразовывать ксенобиотики для получения энергии и углерода или с целью детоксикации. В первом случае обычно участвуют ферменты, задействованные в основных метаболических путях (Нетрусов, 2013).

Весьма агрессивными метаболитами плесневых грибов являются органические кислоты, синтезируемые грибами, развивающимися на промышленных материалах, которые играют двоякую роль: с одной стороны действуют на материалы как агрессивные вещества, с другой, являясь продуктом неполного окисления углеводов, служат источником углерода для дальнейшего развития гриба (Наплекова, Абрамова, 1976).

Разные виды микромицетов, встречающихся на полимерных материалах, выделяют в качестве продуктов своей жизнедеятельности целый комплекс кислот, чаще всего и в больших количествах плесневые грибы образуют такие органические кислоты, как: фумаровую, янтарную, яблочную, лимонную, глюконовую, молочную, щавелевую (Заикина, Дуганова, 1975).

Устойчивость полимерных материалов с различным химическим строением к действию органических кислот, которые могут выделяться микромицетами, неодинакова. Наиболее устойчивы в этом отношении полиэтилен; полиизобутилен, фенопласты и фурановые смолы, менее стойкими являются поливинилхлорид, полиметилметакрилат и полиамидные смолы.

Ведущая роль органическим кислотам отводится в разрушении лакокрасочных материалов. Уксусная и щавелевая кислоты относятся к веществам, сильно разрушающим лакокрасочные материалы даже в малой концентрации. Большим повреждающим действием обладают пировиноградная и глюконовая кислоты. Установлена возможность разрушающего действия низких концентраций (от 0,09 до 0,4%) лимонной, винной и фумаровой кислот (Кулик и др., 1978).

Наряду с органическими кислотами важным фактором биоповреждения являются ферменты. Большое значение имеют выделяющиеся в окружающую среду экзоферменты. При этом разрушение наступает в результате различных реакций - окисления, восстановления, декарбоксилирования, этерификации, гидролиза и др. (Смирнов и др., 1995). При этом имеется четкое соответствие между категорией поражаемого материала и ферментативными свойствами присутствующей на нем микрофлоры.

В мицелиальных грибах найдены ферменты, относящиеся ко всем 6 классам существующей международной классификации. Однако особенно активное разрушающее действие на большинство материалов оказывают оксидоредуктазы, гидролазы, лиазы.

Аналогично высшим эукариотам, синтез ферментов у микромицетов осуществляется на рибосомах, связанных с мембраной. Количество связанных с мембраной рибосом зависит от фазы роста и условий культивирования грибов (Орлов и др., 1974). По современным представлениям, у микроорганизмов имеются в ДНК уникальные последовательности сигнальных кодов, ответственные за придание синтезируемому ферменту способности выделяться из клетки. Они находятся справа от кода инициации, транскрибируются при образовании мРНК (Ильичев, 1987).

Вообще, истинные внеклеточные ферменты грибов могут находиться в периплазматическом пространстве, быть связанными с клеточной стенкой или секретированными в среду культивирования, в общем случае - в окружающую среду.

Высокая вариабельность в локализации различных катаболических ферментов, скорее всего, связана с их функциями и представляется биологически целесообразной, т.к. позволяет грибной клетке в зависимости от условий среды секретировать именно те ферменты, которые в первую очередь необходимы для поддержания жизнеспособности. У клеток мицелия грибов имеются специальные участки, где происходит выход белка в среду.

Наиболее важная роль в данном процессе принадлежит апикальному участку гиф. Это, по-видимому, связано с тем, что в данной области происходит рост мицелия (Безбородов, Астапович, 1984).

Большая доля экскретируемых белков покидает гифы на растущей вершухе, а некоторые задерживаются стенкой и медленно высвобождаются из зрелой стенки в окружающее пространство (Sietsma et al., 1995). Доказательства настоящего положения были получены Е.М. Феофиловой (1983) с помощью изотопных методов.

Секреция ферментов, являясь двухстадийным процессом, состоящим из транслокации белковой молекулы через плазматическую мембрану в период синтеза и последующего выделения белка через клеточную стенку в окружающую среду, на каждом из этих этапов может быть чувствительна к малейшим изменениям в структуре мембраны (Безбородов, Астапович, 1984).

При культивировании микромицетов показано, что в начальный период роста в среде содержание ферментов незначительно, а, когда скорость роста стремится к нулю, наблюдается высокая скорость синтеза экзодеполимераз. Появление внеклеточных ферментов в окружающей среде в значительной степени определяется ее составом. Применение обогащенных питательных сред обычно вызывает подавление накопления гидролаз (Михайлова и др., 1994). Среди различных компонентов питательной среды источники углеродного питания оказывают особенно большое влияние на синтез и секрецию ферментов (Михайлова и др., 1985).

Имеются работы, в которых показано, что секретируемый фермент, присутствующий в среде культивирования в концентрации выше определенной пороговой величины, подавляет собственный синтез. Наоборот, в условиях голодания начинается полное выделение ферментов в среду (Ежов и др., 1978).

Важное место в биоразрушении промышленных материалов принадлежит ферментам класса гидролаз, ибо многие из них, будучи экзоферментами, участвуют в первичной подготовке к расщеплению и

метаболизации питательного субстрата. Особый интерес в плане проблемы биоповреждений представляет подкласс эстераз. Они катализируют гидролитический разрыв эфирных связей в различных соединениях, характеризуются пониженной избирательностью и специфичностью действия. Для эстераз, выделенных из культуральной жидкости *Aspergillus niger* и *Rhizopus aclimar* специфичность определяется практически одним признаком — наличием в субстрате сложноэфирной связи. Они способны гидролизовать триацетины, трибутирины, твины и спены (Билай, 1965).

Степень микробиологической стойкости полимерных материалов зависит от многих факторов. Имеют значение химическая природа макромолекул самого полимера, его надмолекулярная структура и строение, физическая структура материала. Считаются труднодоступными для плесневых грибов типы связей C_4 , $R-CH_3$, $R-CH_2-R'$, карбонильные и карбоксильные радикалы – доступные формы углерода для микроорганизмов (Рудакова, 1969).

Устойчивость полимеров зависит от их молекулярной массы. Чем последняя меньше, тем больше низкомолекулярных фракций входит в состав полимеров, тем менее они устойчивы к действию грибов (Albertson, Randu, 1976). Способность к деградации зависит и от длины цепи между функциональными группами, от гибкости полимерной цепи (Каневская, 1984).

Биоповреждения пластиков, как и других материалов, происходит одновременно с их старением под действием внешних физических и химических факторов окружающей среды (ультрафиолет, вода, перепады температур и т.д.). Оба процесса (биоповреждение и старение) дополняют и усугубляют друг друга (Абрамова и др., 1981).

Большинство плесневых грибов вызывают пигментацию светлоокрашенных поверхностей различных материалов (Ильичев, 1987; Palmer et al., 1991; Traderio et al., 1992).

При воздействии микроорганизмов на поливинилспиртовые волокна виол и метилан, а также на волокна на основе акрилонитрила и на нитронное волокно наблюдались структурные повреждения материала, снижалась точность волокна, уменьшалась его толщина, увеличивалось разрывное удлинение (Жиряева и др., 1991; 1992).

Пораженный микромицетами полиуретан теряет свои амортизационные свойства и быстро раскалывается под давлением и при растяжении (Dixit, 1971).

Развитие микромицетов на электроизоляционных материалах ухудшает их диэлектрические свойства. Образование плесени на поверхности материалов вследствие высокого содержания влаги в клетках грибов (до 90%) приводит к поверхностным перекрытиям между токоведущими частями (Смирнов и др., 1977). В отдельных случаях напряжение пробоя уменьшается после воздействия грибов в 3-5 раз. Удельное объемное и поверхностное сопротивления материалов начинают резко снижаться в момент интенсивного прорастания мицелия, в первые 48-72 ч. после начала обрастания их плесневыми грибами. Эту закономерность наблюдали для многих полимерных материалов: полиэтилена, полистирола, фторопластов, фенопластов и др. (Ильичев, 1987; Лугаускас и др., 1991).

Следствием развития плесневых грибов на резинах является появление пигментных пятен, потускнение поверхности, неприятный запах. Волокна микромицетов, растущих на изоляционных резинах, ухудшают поверхностное электросопротивление. Образование плесени на уплотнительных резиновых деталях вызывает потерю герметичности конструкций. Кроме того, появление плесени на резинах может ухудшать оптические и антикоррозионные свойства соприкасающихся с резинами материалов (Борисова и др., 1978).

Метаболиты грибов и высокая относительная влажность воздуха ухудшают физико-химические свойства лакокрасочных покрытий: модуль

упругости, прочность при растяжении, относительное удлинение резко уменьшаются (Кулик и др., 1978).

Наблюдается разрушение микромицетами поверхности корпусов микросхем, исчезает блеск пластмассы, стирается маркировка, появляются белые пятна, происходит ржавление входных и выходных контактов. Особенно сильно повреждаются транзисторы (Анисимов и др., 1982).

Существенное влияние на грибостойкость полимеров оказывает также биологическая стойкость технологических добавок и примесей, всегда присутствующих в полимерной композиции (наполнители, пластификаторы, стабилизаторы, антиокислители, модификаторы, пигменты и др.) (Рудакова, 1979; Каневская, 1984; Фельдман и др., 1993; Симко, 2002).

Показано, что на композиционных материалах с одинаковой полимерной матрицей развивались представители одних и тех же видов микроскопических грибов вне зависимости от типа почв, в которых инкубировались образцы. С образцов на основе полиуретана были изолированы *Trichoderma harzianum*, *Penicillium auranthiogriseum*, *Clonostachus solani*; на поверхности образцов на основе севилена доминировали *Fusarium solani*, *Clonostachus rosea*, *Trichoderma harzianum*; *Ulocladium botrytis*, *Penicillium auranthiogriseum* и *Fusarium solani* – в вариантах с полимером; *Trichoderma harzianum*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus ochraceus* и *Acremonium strictum* – были выделены с композитов на основе Лентекса и *Mucor circinelloides*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium auranthiogriseum* – с образцов на основе поливинилового спирта. Электронно-микроскопические исследования показали, что в процессе деструкции наблюдалось изменение структуры поверхности скола полимера (разрыхление, увеличение пористости). Соответственно изменялись и физико-механические свойства полимеров, прежде всего их прочность (Легонькова, Селицкая, 2009).

Биодеградация гибридных полимерных композитов на основе крупнотоннажных синтетических полимеров и биоразрушаемых

наполнителей при воздействии почвенных микроорганизмов заключается в повторяющемся прохождении этапов: поверхностная биокоррозия, образование более пористой структуры (за счет «отрицательного вымывания», и «расходования» наполнителей), внутренняя биокоррозия (за счет адгезионного закрепления микромицетов на внутренних неровностях), распространение эрозии, фрагментация (Легонькова, 2009).

В результате 3-х месячного выдерживания образцов в условиях воздействия плесневых грибов у материалов на эпоксидных смолах прочность при изгибе понизилась на 5%, — у полиэфирных на смолах марок ПН-1 и ПН-15 – соответственно на 19 и 32% (Ерофеев и др., 2004).

Воздействие агрессивной среды биологической природы на образцы лакокрасочных материалов также приводит к изменению их цветовых свойств (Черушова и др., 2004). Последствием поражения лакокрасочных материалов грибами является значительное снижение вязкости, повышение кислотности, ухудшение скорости образования пленки и ее защитных свойств (Борискин и др., 2006).

В результате воздействия продуктов метаболизма микроорганизмов происходит изменение модуля деформации битумных композитов. Характерной особенностью механизма биокоррозии битумных материалов является повышение твердости и модуля деформации в зоне максимального воздействия микроорганизмов, то есть на поверхности (Пронькин и др., 2006).

Также было установлено изменение свойств (изменение предела прочности на сжатие при 20°C) асфальтобетонных образцов, подвергнутых воздействию биологически-агрессивной среды (Петрунин и др., 2006). Показано, что модельные агрессивные среды, имитирующие экзометаболиты грибов, способны ухудшать у эпоксидно-каменноугольных композитов такие механические показатели как прочность на растяжение и сжатие (Кондакова и др., 2006).

1.2. Использование в качестве источника питания полимерных материалов на основе природных и синтетических компонентов отдельными микроорганизмами и микробными сообществами

Полимерные материалы, будучи органическими соединениями способны подвергаться биологическому разрушению, т.е. утилизироваться (Анисимов и др., 1979).

По устойчивости к биоповреждающим агентам синтетические полимеры делятся на 3 группы:

1. *Относительно легко деградируемые полимеры.* Полностью или частично утилизируются микроорганизмами как источник углерода и энергии. Особенно быстро это происходит в жарком климате при повышенной влажности.

2. *Относительно устойчивые полимеры.* К этой группе относятся термоусадочные полиамиды, коррозионно-защитные покрытия, армированные волокнами полимерные композиты.

3. *Биостойкие полимеры.* Из этой группы полимеров распространенные – полиэтилен высокой и низкой плотности и полипропилен. В природных условиях биоразложение их очень медленное. Экспонирование полиэтилена к ультрафиолету, солнечным лучам и, как следствие, протекание фотохимических реакций, способствует деградации. Добавки к полиэтилену, такие как крахмал, антиоксиданты, красящие вещества, сенсибилизаторы и пластификаторы могут повысить биодоступность полимера (Кузнецов и др., 2010).

Пластмассы, пластики. В определённых условиях эксплуатации повреждаются биологическими агентами, основными среди которых являются микроскопические грибы (Новикова, 1994; Розенталь, 1994; Павлов, 1982; Анисимов и др., 1983; Стакишайтите-Инсодене, 1981; Паутените, Лугаускас, 1981; Туркова, 1976; Ross, 1969). Чаще всего на них встречаются *Aspergillus flavus*, *A. versicolor*, *A. niger*, *A. terreus*, *Penicillium funiculosum*, *P. brevicompactum*, *P. lanosum*, *P. cyclopium*, *Paecilomyces variotii*,

Trichoderma lignorum, *Alternaria alternata*, *Chaetomium globosum*, *Fusarium oxysporum* (Рудакова, 1979; Соломатов и др., 1987).

Влияние микроорганизмов на срок службы и эксплуатационные характеристики электрооборудования и других изделий привлекло внимание инженеров более 100 лет назад (Ерухимович, Рудакова, 1977).

Установлено, что рост грибов на полимерах приводит к определённым ухудшениям характеристик: прочность при разрыве (σ), и относительное удлинение при разрыве (ϵ). Менее выражено ухудшение показателей морозостойкость (T_{xp}) и кислородный коэффициент (КИ) (Смирнов и др., 1991). Отмечается, что биообрастание, даже не превышающее 1–2 баллов по ГОСТ 9.049-75 зачастую сильно снижает диэлектрические свойства полимеров (Тарасова и др., 1983; Толмачёва и др., 1983; Толмачёва и др., 1987). Показано, что стеклотекстолит может служить питательным субстратом для плесени (Серкова, Смирнов, 1981).

Полистирол — карбоцепной термопластический полимер, получаемый полимеризацией мономерного стирола в присутствии различных инициаторов (перекисей, гидроперекисей, азотсоединений). Обладает водостойкостью и высокими диэлектрическими свойствами, стоек к действию микроорганизмов. Воздействие смеси штаммов плесневых грибов в течение 8 месяцев не приводит к поражению полистирола грибами. Биodeградация производных полистирола под воздействием микромицетов осуществляется путём введения новых функциональных групп в бензольные кольца полистирола (Haraguchi et al., 1980).

Полиамиды — гетероцепные термопластические полимеры, для синтеза которых используют алифатические, ароматические дикарбоновые кислоты и диамины, ω -аминокарбоновые кислоты и их лактаны. В качестве стабилизаторов используют уксусную и адипиновую кислоты и их соли, в качестве наполнителей — тальк, графит, стекловолокно и др. Лабораторные исследования микробиологической стойкости плёночных материалов (полиамид-6, полиамид-6,6) показали, что эти полимеры негрибостойки.

Воздействие некоторых штаммов грибов на полиамидные плёночные материалы приводит к понижению прочности до 80 % (Анисимов и др., 1980; Репечкене, 1990).

Каневской и Орловой (1983) показано, что с фенопластов наиболее часто изолируют следующие сочетания грибов: *Aspergillus niger*, *Chaetomium globosum*, *Spondylocladium fumosum*, *Trichoderma lignorum*; *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium funiculosum*; *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *A. ustus*. С фенопластов, защищенных фунгицидами, преимущественно выделяют *Aspergillus niger* и *Trichoderma lignorum*, которые развиваются одиночно.

Изучалась грибоустойчивость промышленных образцов пластмасс; фенопластов с минеральным и органическим наполнителем и их смесью, полиэтиленов высокой и низкой плотности, полистиролов различного способа производства. Наиболее активно исследуемые субстраты поражались *Aspergillus niger*, *A. teneus*, *A. flavus*, *Penicillium cyclopium*, *P. chrysogenum*, *P. funiculosum*, *Paecilomyces varioti*, *Chaetomium globosum*, *Trichoderma lignorum*; визуальный рост их обнаруживался на 5–20-й день. Грибоустойчивость полимерных материалов снижается в процессе их старения, последнее зависит от длительности действия факторов, его вызывающих. Поражение грибами полимерных материалов вызывает изменение их диэлектрических свойств (Андреюк и др., 1980).

В натуральных условиях в прибрежных районах Аджарии на микологических площадках и при различных способах хранения через 1-2 года отмечено поражение разных пластмассовых материалов. Степень поражения различных марок пластмассовых материалов неодинакова: наиболее грибостойким был термопласт «Э», наименее — полиэтилен, армированный виолом (Николаенко и др., 1978).

Спонтанное и после заражения грибами поражение пластмасс, резин и других материалов наблюдалось в условиях атмосферы морского тропического климата. Наиболее агрессивными были виды родов *Aspergillus*,

Penicillium, *Cladosporium*, *Aureobasidium*. При поражении резин *Aureobasidium pullulans* на их поверхности образуются трещины, которые заполнены темным мицелием гриба. Различные пластмассы спонтанно поражались *Asp. niger*, *Asp. flavus*, зоны повреждения до 2–3 см² отличались изменением цвета и поверхности. Спонтанно возникающие в данных условиях грибные повреждения вызываются более ограниченным числом видов, чем возникающие при инфицировании материалов, хотя в последнем случае повреждения наступают быстрее и нередко при смешанном заражении культурами разных видов грибов (Коваль и др., 1978).

Большой ущерб причиняют повреждения грибами различных упаковочных средств из пластмассы, пленчатых покрытий, плёнок красителей и др. Поражающие виды грибов образуют внеклеточную каталазу, пероксидазу, целлюлазу, фосфатазу, полифенолоксидазу (Коваль и др., 1978).

С полистиролов выделяют следующие виды грибов: *Aspergillus niger*, *Spondylocladium fumosum*, *Trichoderma lignorum*; *Chaetomium globosum*, *Trichoderma lignorum*.

Повреждения материалов, применяемых в радиотехнической промышленности, наиболее часто вызывались *Cladosporium herbarum*, *Cl. resinae* *Alternaria tenuis*, *A. tenuissima*, *A. resedae*, *Penicillium paxilli*, *P. spinulosum*, *P. viridicatum*, *P. chrysogenum*, *P. expansum*, *P. cyclopium*, *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. ustus*, *A. versicolor*, видами *Chaetomium* и *Trichoderma*. В условиях эксперимента наименее грибостойкими оказались фенопласт СП-2-342-02, гетинакс 1-1, текстолит ПТ, полиэтилен 182 черный 902, пластикат ПСПД-6-8, эмаль МП12 по Ц6Хр, гетинакс 1-5, флюксы КСП и ЛГИ (Лугаускас и др., 1978).

В различных экспериментальных условиях изучалась грибостойкость 41 образца декоративных пластиков и 15 образцов стеклопластика. Через 10 – 15 дней после заражения на поверхности бумажно-слоистых пластиков (особенно на оборотной, шероховатой стороне) отмечался интенсивный рост

тест-культур грибов. При поражении грибами исследуемых материалов их прочность снижается на 23—35% (Тульчинская и др., 1978).

Обрастание полимерных материалов, применяемых в изделиях авиационной техники, значительно ухудшает их электрические, оптические, декоративные и другие свойства и нередко вызывает полное разрушение. Интенсивность повреждения материалов зависит от степени их старения (Коровина и др., 1978).

Лакокрасочные материалы. Эксплуатируемые в условиях благоприятных для роста и развития плесневых грибов и бактерий могут подвергаться микробиологическим повреждениям. Характерные признаки их проявления — серо-зелёные, бурые, тёмные и другие пятна и налёты плесени на окрашенных поверхностях, растрескивание, шелушение и отслаивание покрытий образование бугров и отверстий (Кулик, 1984); модуль упругости, прочность при растяжении и относительное удлинение резко уменьшаются (Васильев и др., 2004). В большинстве случаев биокоррозия изделий связана с негрибостойкостью таких многокомпонентных полимерных систем, как лаки, краски, эмали (Бережная и др., 1991).

Среди микроорганизмов, повреждающих лакокрасочные покрытия, часто встречаются грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Cephalosporium*. Видовой состав грибов специфичен для различных почвенно-климатических зон. Он формируется из видов, составляющих сообщество, характерное для почв той или иной зоны (Кулик и др., 1979). Разрушение лакокрасочных покрытий происходит в результате механического воздействия мицелия плесневых грибов и под влиянием метаболитов, выделяемых микромицетами в процессе их жизнедеятельности (Ковальский, 1994).

Биоповреждения лакокрасочных покрытий чаще встречаются в условиях влажного тропического и субтропического климата, однако и в условиях умеренного климата микробиологические повреждения могут причинить значительный вред (Сухарева и др., 1995).

Биостойкость готовых лакокрасочных покрытий в значительной степени зависит от их состава химической природы полимерного связующего и пигментов (Коваль и др., 1987). С целью создания лакокрасочных покрытий с улучшенными показателями химического сопротивления используются материалы с применением полимерных плёнкообразующих веществ (Черушова и др., 2000).

Клеи и герметики. Клеи ЭД-6 и ФС-9 неустойчивы к действию плесени, как в чистом виде, так и нанесённые на подложки. Они поражаются, в основном, грибами *Aspergillus niger*, *Penicillium cycloium*, *Trichoderma viride*, *Fusarium moniliforme* (Тарасова и др., 1981). Проводились испытания грибостойкости на полимерном клее ГИПК-117, представляющем собой смесь полимеризованного олигомера эпоксидкремнийорганической смолы Т-111, отвердителя Л-20 — продукт конденсации димеризованных жирных кислот растительного масла с избытком полиамина и суммарного наполнителя (продукт С + Cr_2O_3). Опыты показали, что испытанный клей подвержен обрастанию плесневыми грибами, в основном представителями рода *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. terreus*, *A. ochraceus*, *A. niger*). С целью выявления негрибостойкого компонента, все составные части полимерного клея в отдельности были подвержены заспорению в условиях повышенной влажности и температуры. Негрибостойким оказался суммарный наполнитель (Карапетян и др., 1978). Синтетические клеи, состоящие из поливинилацетатной дисперсии с содержанием поливинилового спирта до 59% к сухой массе, полиэфирного пластификатора (10%) на основе одиновой и себаценовой кислот, используются для приготовления высококачественных сортов бумаги. Наиболее часто из пораженных образцов поливинилацетатной дисперсии выделялись *Trichoderma lignorum*, *Aspergillus fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. candidus* (Любавина и др., 1978). В экспериментальных условиях под воздействием *Aspergillus flavus* изменяются физико-химические свойства и химический состав полимерных клеев. Так, предел прочности клея 400 через месяц после заспорения снизился на 38,8%,

а при температуре 100° С — на 70%, снижалось также содержание углерода и водорода (Карапетян и др., 1978).

Установлена различная грибостойкость полимерных герметиков-компаундов, созданных на основе эпоксидных смол, синтетических кремнийорганических каучуков и их составных полимерных композиций. У негрибостойкого герметика ПК-68 на поверхности отчетливо обнаруживались спороносящие колонии *Aspergillus flavus*, изменялась окраска материала. Грибостойкость эпоксидных полимеров обусловлена наличием в их составе фунгицидных компонентов. Согласно литературным данным негрибостойкими являются герметики: ВГК-18; ВГО-1; ВГФ-2; ВГФ-4-8; ВИТО-1; ВИТЭФ-1, ВИТЭФ-2; пеногерметики ВПГ-2Л, ВПГ-300; ВЭР-1; К-68; компаунд КТ-73; ПК-68; ПКФ-68Р; компаунд ППК-21; У-1-18, У-2-28, У-4-21, У-30мэс-5, У-30мэс-19, У-40-71; УТ-32; УФ-7-21; УФ-7-21Б; УФ-8П; УФ-10-21; 1-Г-22, 51-Г-2, 51-Г-9 (Бочаров и др., 1986).

Хитин. В 1984 г. учёные Davis и Eveleigh предположили, что в природе может существовать два пути катаболизма хитина. Один путь хорошо изучен и определены микроорганизмы, использующие хитин, как источник энергии, углерода и азота, а также ферменты, принимающие участие в процессе. Этот путь заключается в деградации хитина под действием хитиназ первоначально до хитоолигосахаридов и далее до хитобиозы, с последующим превращением её в N-ацетилглюкозамин в присутствии N-ацетил-β-глюкозаминидазы и в глюкозоамин при действии N-ацетилглюкозоамино-деацетилазы. Второй путь, так называемый «хитозановый» постулирован по аналогии с деградацией других природных полимеров. Ключевым ферментом в этом случае служит хитиндеацетилаза (КФ 3.5.1.41), которая отвечает за превращение хитина в хитозан. Этот фермент был найден у некоторых микроорганизмов, в частности в грибах. Образующийся хитозан под действием хитозаназы деградирует до димеров глюкозоамина, последний, в свою очередь, до мономеров в присутствии фермента — глюкозаминидазы (Dinter et al., 2000). В настоящее время выделены, очищены и описаны

хитиндеацетилазы из целого ряда микроорганизмов (Alfonso et al., 1995; Коресну, Hodrova, 2000; Gao et al., 1995; Tsigos, Bouriotis, 1995; Kafetzopoulos et al., 1993). Эти ферменты представляют собой гликопротеины (содержание углеводов сильно варьирует). Они секретируются либо внутриклеточно, либо внеклеточно. Кроме того, все ферменты проявляют высокую термостабильность, значительно отличаются по молекулярной массе и pH-оптимуму активности, но все строго специфичны к водорастворимому поли- $[(\beta\text{-(1,4)-N-ацетил-D-глюкозоамину})]$ (Ильина, Варламов, 2002).

Изучение хитиназной активности у мицелиальных грибов показало, что наилучшим ростом на коммерческом хитине характеризуется *Penicillium variabilis*, проявивший уникальную способность к использованию хитина как источника углерода, расщепляя линейный полимер $\beta\text{--1}\rightarrow\text{4--N-ацетил--D-глюкозамин}$. Также показано присутствие комплексной хитиназной системы в дрожжевых и гифальных клетках *Candida albicans* (Jackson et al., 1996).

Вблизи глубоководного гидротермального выхода у западного побережья Мексики с глубины 2600 м. выделена новая, гипертермофильная анаэробная археобактерия *Thermococcus chitonophagus*, которая растёт за счёт использования хитина. Продуктами разложения хитина являются H_2 , CO_2 , NH_3 , ацетат и формиат. Хитин-разлагающая ферментная система связана с клетками, устойчива к O_2 и индуцируется хитином (Huber et al., 1995).

Предложен метод получения хитинолитических ферментов с помощью культуры *Penicillium janthinellum*. Молекулярные массы, определённые при использовании SDS – Page, составляли 40000 – 60000. Представлен процесс получения хитинолитических ферментов, предусматривающий культивирование иммобилизованных на модифицированном макропористом целлюлозном носителе клеток *P. janthinellum* при условиях обеспечивающих непрерывное образование хитинолитических ферментов, которые могут быть использованы для биodeградации хитина (Raetz et al., 1997).

С целью отбора активного продуцента хитиназы изучены четырнадцать изолятов четырёх видов *Trichoderma*. Максимальная активность фермента обнаружена у изолята *T. harzianum* 39,1 (2,06 ед./мг белка), использованного в дальнейшем для изучения регуляции синтеза этого фермента. Отмытый мицелий изолята инкубировали на минимальной среде с различными источниками углерода. Хитин индуцировал синтез хитиназы, глюкоза и N-ацетилглюкозамин его ингибировали. Максимальный выход фермента получен на среде с концентрацией хитина 0,5 %, pH = 6,0, при T = 28 °C. Синтез хитиназы блокируют ингибиторы синтеза РНК и белка: 8-оксихинолин и циклогексимид соответственно (Ulhoa, Peberdy, 1991).

У десяти штаммов грибов из родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Raecilomyces*, *Trichoderma* и др. проведено исследование хитинолитической активности. Наиболее высокий уровень её обнаружен у *A. niger* F-1119 и *Trichoderma lignorum* (Кучерявых, 1999).

Хитозан. Сообщается об идентификации мезофильного актиномицета — продуцента термостабильной хитозаназы. Новый штамм идентифицирован как *Nocardioides* sp. K-01. Оптимальная температура действия 55 – 60°C, стабильна при pH = 5,0 – 5,5, молекулярная масса равна 27000. установлено, что на хитин фермент не действует, а по отношению к хитозану активность уменьшается с уменьшением степени деацетилирования. Фермент не расщепляет глюкозаминовые димеры или тримеры, он расщепляет тетрамеры до димеров, пентамеры и гексамеры до димеров и тримеров (Shoji, 1995).

Также были выделены и идентифицированы как *Penicillium spinulosum* хитозан-деградирующие грибы, которые были использованы для получения хитозаназы в солевой среде, содержащей клеточные стенки *Rhizopus* в качестве единственного источника углерода. Максимальная продукция фермента наблюдалась при использовании клеточных стенок в концентрации 1 %. Фермент был очищен в 50 раз при осаждении сульфатом аммония и

ИОХ, и затем охарактеризован. Показано, что оптимальные значения pH и температуры для фермента составляли pH = 5,5 и 55 °C, соответственно. Значения $K_{[M]}$ и $V_{[max]}$ составляли 1,7 мг. хитозана/мл и 146,4 мкмоль глюкозамина/мл·мин, соответственно. Потеря приблизительно 15 % и 50 % активности наблюдалась при двадцати минутном нагревании при pH = 4,2 и температуре 45 и 65 °C, соответственно (Ak et al., 1998).

Показано, что эффективный штамм-продуцент *A. oryzae* IAM 26 демонстрировал высокие уровни хитозанолитической активности при использовании N-ацетилглюкозамина в качестве источника углерода. Из культуральной жидкости *A. oryzae* IAM 2660 выделены и очищены два хитозанолитических фермента с молекулярной массой 40 и 135 кДа. Анализ вязкости и анализ продуктов реакции путем тонкослойной хроматографии показал существование эндо- и экзо-типа деградирующего действия для 40-кДа и 135 кДа ферментов, соответственно. Фермент с молекулярной массой 40 кДа, обозначенный хитозаназой, катализировал гидролиз глюкозаминовых олигомеров в большей степени, чем пентамер, гликольхитозан, и хитозан с низкой степенью ацилирования (0-30%). Фермент с мол. массой 135 кДа, названный экзо-'бета'-D-глюкозаминидаза, высвобождает единственный остаток глюкозамина из олигомеров глюкозамина и хитозана, но не высвобождают остаток ацилированного глюкозамина ни из олигомера ацилированного глюкозамина, ни из коллоидного хитина (Kodaira et al, 2000).

Харкевичем и др. (2002) исследовалась грибная контаминация хитина и хитозана на всех этапах технологической обработки панцирьсодержащих отходов крилевого производства. Результаты анализа динамики заселённости грибами хитинсодержащих субстратов показали, что образование сообществ микромицетов тесно связано с влиянием условий на отдельных операциях технологического цикла. В ходе последовательных этапов процесса получения хитина и хитозана различаются три группы контаминации субстратов: естественная контаминация, контаминация после обработки кислотой и контаминация после обработки щёлочью. Показано, что

источниками инфицирования в ходе различных этапов технологического цикла служат воздух и промывные воды, а ведущим фактором в динамике грибного заселения хитинсодержащих субстратов является изменение pH среды.

1.3. Основные средства и способы защиты от биоповреждений, вызываемых микроскопическими грибами

Изучение работ отечественных и зарубежных авторов в области биотехнологии позволило обобщить основные методы борьбы с биоповреждениями (Соломатов и др., 1998). Они могут быть временно применяемыми и длительными.

1. Физические методы защиты. Для защиты материалов и изделий от поражения микроорганизмами, а также для их уничтожения используется ряд физических факторов: электромагнитное и радиоактивное облучение, обработка ультрафиолетом, ультразвуком электрохимическая защита, которые относятся к временно действующим мероприятиям. Применяются также специальные эксикаторы, снижающие влажность (Анисимов, Смирнов, 1980);
2. Биологические методы защиты. В качестве биологических методов защиты используются способность микроорганизмов к антагонизму (конкуренции), т.е. угнетение или полное подавление роста одних микроорганизмов другими, применение антибиотиков. Сюда относится также отрицательный хемотаксис грибов и бактерий (Гукасян, Гродницкая, 1998);
3. Химические методы. Одним из наиболее эффективных и длительно действующих способов защиты материалов от поражения микроорганизмами является применение биоцидных соединений. Последние вводятся в состав материала в процессе его изготовления или методом пропитки. Кроме того, на поверхность

материалов и изделий, подверженных микробному поражению, наносятся биоцидные лакокрасочные и клеящие покрытия (Бочаров, 1984; Горина, Богатов, 2009).

Фунгициды. Химические методы защиты осуществляются с использованием химических веществ, получаемых преимущественно методами химического синтеза и называемых биоцидами или антисептиками, а по отношению к грибам — фунгицидами.

Одно из преимуществ биоцидов заключается в том, что они могут применяться разными способами в зависимости от защищаемого объекта — введением в состав материала при его изготовлении, методом пропитки, а также нанесением на поверхность материалов и изделий, подверженных микробному поражению (Анисимов, Смирнов, 1980).

Фунгициды разделяют на следующие группы (Сухаревич, 2009):

1. антибиотики (биофунгициды);
2. органические соединения;
3. неорганические соединения.

В основе токсического действия фунгицидов лежит их способность ингибировать те или иные реакции метаболизма микромицетов, нарушать их клеточные структуры. Как и любое экзогенное вещество, фунгицид первоначально контактирует с клеточной оболочкой и мембраной, проникает через них и затем уже вступает во взаимодействие с внутриклеточным содержимым. Наиболее вероятным механизмом поступления токсинов в клетку является диффузия через клеточную оболочку по градиенту концентрации, а в случае заряженных веществ определенная движущая сила создается градиентом заряда по обе стороны мембраны (Анисимов и др., 1988).

Вопрос о механизме действия фунгицидов многими авторами рассматривается с точки зрения ингибирования метаболитов и ферментативных систем грибов. Многие фунгициды ингибируют метаболизм более чем на одной стадии его последовательного пути (Кадыров, 1970; Анисимов и др., 1987).

Фунгициды взаимодействуют с достаточно узким кругом функциональных групп веществ клетки. Однако, это те группы, которые играют важнейшую роль в метаболизме и образовании клеточных структур. Некоторые фунгициды нарушают структуру или функцию клеточных компонентов, например, реагируя с сульфгидрильными или аминокетильными группами белков оболочки, они изменяют ее проницаемость (Уэбб, 1966). Атакуя активные группы ферментативных белков, фунгициды инактивируют многие ферменты. Атомы галогенов могут вступать в реакции замещения с NH_2 - и SH -группами (Мельников, 1968; Кадыров, 1970). Так, фунгицид 4,5,6-трихлорбензоксазолин инактивирует изоцитратдегидрогеназу и малатдегидрогеназу (Анисимов и др., 1977).

Фунгициды взаимодействуют в клетке также с соединениями, содержащими карбоксильные, спиртовые, альдегидные группы, путем нуклеофильного замещения, окислительно-восстановительной реакции, образования хелатных комплексов и т.д. (Коваль, Сидоренко, 1989). Кроме этого, некоторые фунгициды являются мутагенами. Так, при исследовании влияния некоторых фунгицидов на *Saccharomyces cerevisiae* показано, что сильным мутагенным действием обладают производные нитрофурана $\text{C}_7\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_4$ и морфолина ВНХ-Л-20-М₁, тетраметилтиурамдисульфид, фундазол, индуцирующие реверсии по гистидину и рекомбинации по лизину (Пашкявичус, 1993).

Биологическая активность ряда химических соединений определяется их способностью взаимодействовать с клеточной мембраной и, следовательно, изменять структуру мембраны, ее проницаемость для определенных ионов, ингибировать связанный с мембраной белок, влиять на активный и пассивный транспорт (Пирузен и др., 1974).

Из всех известных в настоящее время биоцидов самую большую группу представляют органические антисептики, среди которых хорошо известны четвертичные аммониевые соединения. Четвертичные аммониевые соединения являются агентами, вызывающими денатурацию белка и

нарушающими целостность клеточной мембраны (Вербина, 1973; Злочевская и др., 1980; Иванов и др., 1996).

Органические фунгициды вызывают ингибирование биосинтеза белка у плесневых грибов. Так действуют монохлорацетаминоканифоль и 4,5,6-трихлорбензоксазолинон (Смирнов, 1976), триэтилоловохлорид (Злочевская, Галимова, 1984).

Органические соединения, содержащие в своём составе атомы тяжёлых металлов, таких как ртуть, олово, свинец, серебро и др., угнетают развитие многих биоразрушителей (Ховрычев и др., 1976). Токсичность производных меди и ртути, вероятно, связана с взаимодействием этих соединений с дыхательными ферментами, содержащими сульфгидрильные группы (Иванова, 1964). Тяжёлые металлы в порядке снижения токсичности их ионов, можно расположить в ряд: $\text{Ag} > \text{Hg} > \text{Cd} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Zn} > \text{Sr} > \text{Rb}$ (Туманов и др., 1976). Показано, что ионы Zn, Co, Mn влияют на синтез органических кислот микромицетов, ионы Cu, Co и Mo оказывают ингибирующее действие на морфогенез микроскопических грибов р. *Fusarium* (Элланская и др., 1993).

В ряду галогеноидов наиболее токсичным для грибов, по мнению Туманова А.А. с соавт. (1976), является йод. Токсичность серы, входящей в состав биоцидных соединений, заключается в действии её как акцептора водорода, и, таким образом, она принимает участие в процессах гидрогенизации и дегидрогенизации, происходящих в клетках грибов (Иванова, 1964).

Биоцидность хинонов связывают с высокой реакционной способностью. Взаимодействуя с клеточными метаболитами, хиноны блокируют их, выключают их из обменных процессов. Основными мишенями их действия являются, видимо, аминогруппы и тиолы. Ингибируя тиоловые и аминоксодержащие ферменты, хиноны, в первую очередь, нарушают дыхательные системы, разобщают окислительное фосфорилирование, инактивируют коэнзим А. Фунгитоксичность

уменьшается с изменением ядра хинона в следующем порядке: нафтохинон > фенантрахинон > бензохинон > антрахинон. Галоидирование увеличивает биоцидность в такой последовательности: I < Br < Cl (Ильичев, 1987).

В работах целого ряда авторов изучалось действие разных классов фунгицидов на процесс дыхания у плесневых грибов. Было показано снижение интенсивности дыхания при воздействии на грибы таких биоцидов как мертиолат, моноклорацетоаминоканифоль, трилан, тетрафторборат аммония, сернокислый натрий, хлористый натрий (Бочева, 1974), малеимид, фурфурол (Гусарова, Витринская, 1970), этоний, н-трибутилолвохлорид, полиалкиленгуанидины (Смирнов и др., 1997).

Специфичными ингибиторами цитохромоксидазного комплекса являются цианиды и сероводород. Активность сукцинатдегидрогеназы в значительной степени подавляется ионами тяжелых металлов (Hg, Си, РЬ) и хинонами. Это фермент, как содержащий сульфгидрильные группировки, может также ингибироваться цианкобаламином и производными малеимида (Ротенберг, Кольман, 1975).

В результате угнетения дыхания и активности дыхательных ферментов под влиянием органических и металлоорганических фунгицидов у грибов наблюдается торможение синтеза органических кислот, образующихся в цикле Кребса.

Редко фунгицид ограничивается единичным механизмом действия. В этом отношении они могут рассматриваться как неспецифические. Но для отдельных микроорганизмов, в определенных условиях, они могут быть высоко специфичными.

В настоящее время человек располагает и широко использует широкий набор биоцидных средств, многие из которых выпускаются и используются в нашей стране. Однако их применение неоднозначно влияет на живые организмы, в том числе на человека. Биоцидные растворы оказывают

угнетающее влияние на все формы белковой жизни всегда вне зависимости от их концентрации в организме. Кроме того, существует и другая опасность применения биоцидных веществ. После использования по назначению они попадают в окружающую среду. Затем в процессе естественной биodeградации и рассеивания эти химические вещества вступают в контакт с огромным числом микроорганизмов, изменяя приспособительные реакции и усиливая механизмы адаптации к внешним неблагоприятным воздействиям. Так появляются новые виды, обладающие повышенным сопротивлением к воздействию биоцидных растворов (Кулешова, Пустоветова, 2006). Также следует отметить, что создание каждого нового фунгицида представляет собой сложный дорогостоящий и длительный процесс. Достаточно сказать, что в среднем только 1 из 4000 соединений, испытанных в качестве потенциальных биоцидов, оказывается практически приемлемым (Бочаров и др., 1985).

Такая ситуация в значительной степени обусловлена чрезвычайно высокими и постоянно возрастающими требованиями к биоцидам. В числе общих требований к фунгицидам — высокая эффективность биоцидного действия, доступность и сравнительно низкая стоимость, растворимость в воде, нестабильность в природных условиях, простота применения, экологическая безопасность и низкая токсичность для человека (Нюкша, 1983).

Для защиты материалов и изделий от поражения микромицетами, а также для их уничтожения используется ряд физических факторов: электромагнитное и радиоактивное облучение, обработка ультрафиолетом, ультразвуком, электрохимическая защита и т.д., которые относятся к временно действующим мероприятиям. Так, для защиты оптических плоскостей от роста плесневых грибов были предложены устройства внутреннего обогрева, токи высокой частоты, стерилизация ультрафиолетом при сборке приборов. Применяются также специальные эксикаторы, снижающие влажность (Анисимов и др., 1980).

Несмотря на то, что в настоящее время для защиты материалов от биоповреждений активно используются механические и химические способы, к наиболее экологически безопасным методам обеззараживания можно отнести ультрафиолетовую обработку пораженных объектов (Поликарпов и др., 2006).

Гамма-излучение эффективно используется для стерилизации микросхем (Александрова и др., 1981), изделий медицинского назначения, лекарственных препаратов (Мороз и др., 1981) и целлюлозосодержащих материалов.

Для защиты резин, целлюлозосодержащих материалов, авиационных топлив, смазок и других специальных жидкостей от микроорганизмов могут применяться ионизирующее излучение, электромагнитное поле и ультрафиолетовый свет.

Одним из способов стерилизации бумаги и других температурно-чувствительных материалов является использование плазмы под низким давлением. Достоинством данного метода является короткое время стерилизации (меньше пяти минут), использование низких температур и отсутствие загрязнений стерилизуемого материала.

Одним из эффективных средств защиты металлических подземных и подводных сооружений от микробной коррозии является катодная защита, изменяющая кинетику электрохимических и коррозионных реакций. Наиболее простой способ катодной защиты состоит в присоединении к стальной конструкции протектора, изготовляемого из металла, более отрицательного по отношению к стали. Протектор является анодом, на котором происходит реакция окисления, а защищаемая конструкция - катодом. В качестве «жертвенного» анода используются магний, цинк, алюминий. Другой метод катодной защиты основан на создании за счет источника тока ЭДС между защищаемой конструкцией и анодом, который чаще всего изготавливается из графита.

Физические методы используют также для защиты от микробиологического поражения различных объектов агропромышленного комплекса. При этом для дезинфекции и стерилизации производят обработку воздуха, воды, емкостей, упаковок и т. д.:

- сканирующим лучом лазера;
- ультрафиолетовым излучением;
- плазмой электрического заряда;
- световым излучением;
- ИК-излучением;
- ультразвуком;
- ультразвуковой обработкой в сочетании с УФ-облучением;
- магнитным полем;
- высокоэнергетическим излучением;
- микроволновым излучением (Соломатов и др., 2001).

Ультрафиолетовое излучение: действие на клеточные структуры и метаболизм микроорганизмов. Ультрафиолетовое излучение — невидимое глазом электромагнитное излучение, занимающее область между нижней границей видимого спектра и верхней границей рентгеновского излучения. Длина волны ультрафиолетового излучения лежит в пределах от 100 до 400 нм. По классификации Международной комиссии по освещению (CIE) спектр ультрафиолетового излучения делится на три диапазона:

UV-A — длинноволновое (315 – 400 нм.)

UV-B — средневолновое (280 – 315 нм.)

UV-C — коротковолновое (100 – 280 нм.)

В течение многих лет развивались методы использования ультрафиолетового излучения для обеззараживания различных объектов (воздуха, воды, пищевых продуктов, предметов обихода и пр.). Интерес к ультрафиолетовому излучению как к средству обеззараживания объясняется большими его достоинствами — быстрота действия, простота выполнения,

возможность применения в любых условиях, почти полное сохранение качеств обрабатываемого объекта и др. (Прищеп и др., 1986; Белоус и др., 1990).

За редким исключением, все работавшие в этой области получили положительные результаты в отношении снижения бактериального обсеменения воздуха и предметов обстановки, — у одних авторов уменьшение бактериального обсеменения составляло 30 – 40%, у других 50 – 80% (Кошкин, 1960).

Была проведена работа по изучению видового состава микрофлоры воздуха лабораторных помещений под влиянием ультрафиолетового излучения. Воздух помещения в каждом опыте облучали в течение 3 часов. Пробы воздуха брали до облучения, через 30 минут; 1 час; 1,5 часа; 2 часа; 2,5 часа и 3 часа после начала облучения. Облучение лабораторного помещения коротковолновым ультрафиолетовым излучением приводило к закономерному снижению содержания микроорганизмов в воздухе. Во всех опытах число микроорганизмов до облучения принималось за 100% и все дальнейшие вычисления проводились, исходя из этих величин. Наибольшее снижение числа жизнеспособных бактерий и спор плесневых грибов наблюдалось в первые 30 минут облучения. При дальнейшем облучении процесс отмирания бактерий и плесневых грибов резко замедлялся. Так, в течение первых 30 минут облучения в среднем гибло 62,7% бактерий и 45,2% спор плесневых грибов (за 100% принималось содержание бактерий и плесневых грибов до облучения). После 1 часа облучения отмирало 73,2%, после 2 часов — 83,2% и после 3 часов — 87,9% бактерий. Сравнение отмирания бактерий и плесневых грибов в воздухе показывает, что последние более резистентны к губительному действию коротковолнового ультрафиолетового излучения. Так, после 1 часа облучения гибнет 55,7%, после 2 часов — 64,5% и после 3 часов — 73,2% спор плесневых грибов (Влодавец, 1960).

Как отмечалось выше, споры плесневых грибов в воздухе оказались более устойчивыми к ультрафиолетовому излучению, чем бактериальные клетки. Наиболее устойчивы споры плесневых грибов рода *Cladosporium* — после 30 минут облучения гибнет только 74,6% и после 3 часов — 74,6% спор. Наиболее чувствительны к ультрафиолетовому излучению плесневые грибы рода *Aspergillus* — после 30 минут облучения гибнет 60%, а после 3 часов — 89,1% спор. По своей чувствительности к облучению плесневые грибы рода *Penicillium* занимают промежуточное место.

На протяжении многих лет внимание экспериментаторов сосредоточивалось на анализе повреждающего, а не благотворного действия ультрафиолетового излучения. Основной акцент во всех работах делали на эффектах коротковолнового ультрафиолетового излучения, прежде всего таких линий, как 254, 260 и 265 нм. Интерес к этим длинам волн понятен ввиду их высокой повреждающей активности и сильного поглощения нуклеиновыми кислотами, ключевая роль которых в процессе клеточной жизнедеятельности хорошо известна (Ветцел и др., 1971; Завильгельский и др., 1971; Самойлова, 1971).

Не привлекают пока к себе должного внимания весьма важные с практической точки зрения исследования влияния на клетку длительных или хотя бы систематических облучений. Эти работы нацелены скорее на решение теоретических вопросов радиобиологии и молекулярной биологии, нежели задач, связанных с использованием ультрафиолетового излучения в медицине, сельском хозяйстве, биотехнологии и других отраслях.

К числу наиболее общих реакций клеток на облучение относятся гибель, задержка деления, мутации. Эти реакции представляют собой конечный этап в цепи событий, развертывающихся в облученной клетке вслед за фотохимическими модификациями в молекулах нуклеиновых кислот и белков (Самойлова, 1971).

Эффект последствия ультрафиолетового излучения, называемый ультрафиолетовой болезнью, индуцируется как коротковолновым (254 нм),

так средневолновым (280—315) и длинноволновым ультрафиолетовым излучением (315—380 нм).

Под влиянием малых доз ультрафиолетового излучения клетки могут приобретать способность размножаться в несколько более высоком темпе. Т. е., все участки ультрафиолетового спектра обладают стимулирующим действием.

Пытаясь понять, нарушения каких структур и биохимических процессов приводят к летальному и антимитотическому эффектам, исследователи уже давно обратились к изучению тех компонентов клетки, с которыми связаны нуклеиновые кислоты, так как именно с их спектром поглощения удивительно точно совпадают спектры действия для основных цитологических эффектов ультрафиолетового излучения. Среди фотопродуктов, образующихся в облученной ДНК, наиболее обоснованным сейчас представляется участие в биологической инактивации димеров пиримидинов (Ветцел и др., 1971; Завильгельский и др., 1971).

Наиболее вероятной причиной гибели клеток после ультрафиолетового облучения представляется появление в ДНК урацила и его фотопродуктов, а также сшивок между комплементарными нитями ДНК или сшивок между ДНК и белком нуклеопротеида. Вклад перечисленных фотопродуктов в летальный эффект действия ультрафиолетового излучения убедительно доказывают опыты с объектами, ДНК которых содержит вместо тимина его галогенизированные аналоги — бромдезоксисуридин или йоддезоксисуридин. При ультрафиолетовом облучении аналоги дегалогенизируются и превращаются в урацил, который немедленно образует димеры и гидраты. Галогенизированная ДНК дает более высокий выход межмолекулярных сшивок и сшивок ДНК—белок. Существенно, что объекты, содержащие аналоги, чувствительнее к ультрафиолетовому излучению, а их способность к фотореактивации и темновому восстановлению оказывается полностью подавленной (Ветцел и др., 1971; Завильгельский и др., 1971; Самойлова, 1971).

Для временного торможения синтеза ДНК, по-видимому, достаточно образования только димеров пиримидинов. У *E. coli* восстановление синтеза ДНК происходит только после выщепления димеров; штаммы, не способные к элиминации димеров, не восстанавливают синтеза ДНК (Самойлова, 1971).

При облучении бактерий в дозах, инактивирующих 80—90% клеток, синтез ДНК угнетается немедленно, тогда как новообразование РНК, рост клеток и потребление ими кислорода остаются интактными в течение некоторого времени. Следовательно, ультрафиолетовые повреждения молекул РНК, так же как и повреждения молекул ДНК, ведут к ошибкам в кодировании, что может составить одну из основных причин гибели клеток и снижения скорости важнейших синтетических процессов.

Конечный физиологический эффект ультрафиолетового облучения, вероятно, связан с повреждением и других систем клетки. Существенными могут оказаться нарушения окислительного обмена. Несмотря на то, что потребление клетками кислорода не снижается в течение некоторого периода после облучения даже в достаточно высоких дозах, имеются основания полагать, что в процессах внутриклеточного окисления происходят серьезные изменения. Поврежденные облучением бактерии и дрожжи утрачивают способность отвечать увеличением поглощения кислорода на добавление к среде экзогенных субстратов — глюкозы, спирта, пирувата. Этот тип дыхания, называемый экзогенным, по-видимому, сразу же повреждается облучением, тогда как эндогенное дыхание, идущее за счет окисления внутриклеточных ресурсов, не только не снижается, но даже несколько стимулируется. Судя по тому, что величина дыхательного коэффициента остается неизменной, в качестве субстрата окисления клетка продолжает использовать те же вещества, что и до облучения. Однако энзиматический механизм дыхания, вероятно, подвергается значительным модификациям, ибо оно становится нечувствительным к дыхательным ядам — цианиду калия и азиду натрия (Владимиров, 1960; Завильгельский и др., 1971; Самойлова, 1971).

Современные представления о механизмах действия миллиметровых волн на микроорганизмы. При исследовании действия ЭМИ КВЧ на биохимическую активность гнилостного анаэробного микроорганизма *Cl. sporogenes*, было обнаружено ингибирование активности ферментов этих клеток, расщепляющих пептидные связи по тирозину, лейцину, глицину, глутаминовой кислоте, валину и метионину, и в то же время излучение активизировало протеолитические системы, осуществляющие гидролиз пептидной связи по гистидину и аланину. При исследовании действия ЭМИ КВЧ на образование протеаз у плесневого гриба *Aspergillus oryzae* обнаружено увеличение фибринолитической активности в диапазоне длин волн (6,0-6,6 мм), причем при длине волны 6,5 мм направление эффекта менялось на противоположное.

Наиболее значительное влияние ЭМИ КВЧ на процессы размножения клеток было обнаружено в экспериментах с бактериями *E. coli*, которые облучали при частоте 136 ГГц и интенсивности 7 мкВт, (Webb, Dodds, 1968). Наблюдали ингибирование роста клеток в облученной культуре, составляющее через 4 часа облучения около 600%. Отмечается подавляющее действие на процессы метаболизма клеток, особенно в начальный период развития. (Гапеев, Чемерис, 1999).

Проведено исследование последствий КВЧ-излучения двух разных частотных диапазонов на рост и физиологическую активность хлебопекарных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 509. Обнаружено улучшение технологических характеристик дрожжей под действием оптимальных частот обеих исследуемых областей. Значения концентрации биомассы, подвергнутой облучению в более высокочастотной области, превышают значения, полученные при обработке ЭМИ КВЧ меньших частот. Структурно-динамический анализ дрожжей, предобработанных ЭМИ КВЧ диапазона, показал, что КВЧ-излучение оказывает влияние на динамику конформационных переходов и соотношение конформеров в составе

биополиметров независимо от места их локализации в дрожжевой клетке. (Крыницкая и др., 2004).

Воздействие ЭМИ КВЧ в диапазоне частот 53,77-54,57 ГГц приводит к изменению процессов метаболизма в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* LK 14. В исследуемом диапазоне обнаружена оптимальная частота облучения – 54,17 ГГц. При действии этой частотой происходит улучшение показателей роста дрожжей, включая концентрацию биомассы, подъемную силу, зимазную и мальтазную активности.

Способность дрожжей сбраживать глюкозу и фруктозу определяется по величине подъемной силы и зимазной активности. Опыты по определению этих показателей проводились с использованием культуры, облученной ЭМИ с оптимальной частотой (54,17 ГГц) и на контрольном образце, то есть на дрожжах, не подвергшихся действию ЭМИ. Подъемная сила опытных дрожжей увеличилась практически в два раза по сравнению с контролем. В ходе экспериментов было, в частности, установлено, что воздействуя ЭМИ в окрестности длины волны 6,5 мм в течение 2 часов при плотности потока мощности около 5 мВт/см^2 на кишечную палочку, можно изменить в 2 – 3 раза процент микроорганизмов, выделяющих белок колицин; воздействуя десятикратно (по 2 часа ежедневно) на суспензию в воде спорового гриба аспергилла в окрестности волны 6,4 мм удавалось повысить его фибринолитическую активность в 2 – 2,5 раза; воздействуя семикратно (также по 2 часа ежедневно) в окрестности волны 6,0 мм при той же плотности потока мощности на дрожжеподобный гриб эндомикопсис, используемый в качестве продуцента амилолитических ферментов добавились увеличение амилолитической активности культуры на 50%. (Девятков и др., 1991).

Доминирующей концепцией в области исследований эффектов и механизмов действия электромагнитного излучения крайне высоких частот (ЭМИ КВЧ) на биологические объекты различного уровня организации, от отдельных клеточных компонентов, изолированных клеток и микроорганизмов до целых организмов животных и человека явилась идея о

резонансном взаимодействии ЭМИ КВЧ с живыми системами (Смолянская и др., 1979, Grundler et al., 1983).

Изменение определённого биологического параметра (например, некоторой конкретной ферментативной активности) после воздействия на организм ЭМИ появляется лишь в узких полосах реально воздействующих на него частот, составляющих нередко 10^{-3} - 10^{-4} средней частоты; данное явление получило название острорезонансного эффекта действия. Таких полос, чередующихся с полосами, в которых сколько-нибудь существенного изменения этого параметра не наблюдается, может быть довольно много (Grundler, Keilmann, 1983, Девятков и др., 1982).

Характер острорезонансного биологического действия зависит от частоты колебаний: одни резонансные частоты влияют в большей степени на одни стороны биологической активности, другие – на другие. На разных резонансных частотах, зафиксированных по одной биологической реакции, характер изменения другой реакции может быть существенно отличим от первой. (Девятков и др., 1991).

Проведенные эксперименты по изучению воздействия ЭМИ КВЧ на клетки конкретизируют представления о возможных путях его восприятия организмами. Полученные данные свидетельствуют о едином механизме действия этого вида излучения на растительные и животные клетки.

Все более перспективным представляется использование миллиметровых волн в областях связанных с сельским хозяйством и биотехнологией (Бецкий и др., 2004). В настоящее время обнаружена и экспериментально подтверждена возможность одновременного получения эффектов биостимуляции, дезинфекции и дезинсекции при микроволновом воздействии на семена различных сельскохозяйственных культур. Последние результаты в этой области способны помочь созданию новых микроволновых технологий предпосевной обработки зерна и обеззараживания сельскохозяйственной продукции, а также оборудования для их практического применения. В комплексе возбудителей болезней,

поражающих культуры пшеницы, тритикале и злаковых трав. Одними из наиболее вредоносных являются возбудители корневых гнилей рода *Fusarium* и альтернариоза рода *Alternaria*. Грибы этих родов вызывают болезни проростков, корневые гнили, деструктивные изменения и интоксикацию семян. Они снижают посевные качества семян, развиваются при хранении и перезаражают семена, вызывая их порчу. Изучалось влияние КВЧ-излучения на данные возбудители болезней. Как показали эксперименты, обработка семян КВЧ-излучением оказывала достоверно стимулирующий эффект, всхожесть семян повышалась, снижалась инфицированность семян (Васко и др., 2004).

1.4. Влияние абиотических факторов внешней среды (факторов климатического старения) на процесс биоповреждения полимерных материалов

Известно, что старение, как совокупность физических и химических процессов, протекающих в полимерном материале, приводит к изменению его состава и структуры под действием различных факторов. Важный вклад в процесс старения материалов вносят процессы, обусловленные внутренними факторами: химический состав материала, его структура и строение, фазовое состояние, молекулярная масса.

Старение полимерных материалов — сложное явление, сопровождающееся рядом процессов, которые в зависимости от условий эксплуатации конструкций техники и сооружений и воздействующих факторов среды могут оказывать решающее влияние на прочностные и другие характеристики деталей.

Старение полимеров при эксплуатации изделий и сооружений происходит в основном за счет процессов деструкции макромолекулярных цепей, в результате чего образуется значительное число низкомолекулярных

фракций, снижается средняя молекулярная масса и расширяется спектр молекулярно-массового распределения (Герасименко, 1987).

В проблеме старения полимерных материалов следует различать два аспекта — химико-технологический и инженерно-прикладной (Черский, Филатов, 1980; Уржумцев, Черский, 1985). Первый определяет характер процесса старения и устанавливает причинность необратимого изменения свойств материала. Второй, используя результаты исследований атмосферостойкости материалов, дает возможность их учета при расчете эксплуатационных характеристик (Бабенко и др., 2006).

Проблема старения материалов в настоящее время является одной из центральных в области полимерного материаловедения. Без ее решения невозможно обеспечить надежность эксплуатации изделий из этих материалов в различных климатических зонах (Бабенко, Герасимов, 2006).

При изучении процесса атмосферного старения необходимо учитывать климатические и эксплуатационные факторы (колебание температуры, влажности, светового потока, содержание озона, ограничение обмена воздуха, изолированные пространства и т.п.). Правильность проведения этого этапа исследования будет в дальнейшем влиять на результаты оценки эффектов повреждаемости, выбор и оптимизацию методов защиты (Грилихес и др., 1980).

О том, что процессы биоповреждения и старения материалов находятся в тесной взаимосвязи, свидетельствуют исследования ряда авторов (Ермилова, 1991; Шпотюк и др., 1994; Карпов и др., 1998).

Известно, что наиболее значимыми являются процессы атмосферного старения материалов, включающие комплексное действие климатических и экологических факторов (свет, влага, температура, химическое состояние атмосферы, ионизирующее излучение и др.). Эти факторы оказывают влияние не только на жизнедеятельность микроорганизмов, но под их воздействием в полимерных материалах начинаются изменения химического

состава и структуры. В зависимости от вида, интенсивности и длительности воздействия указанных факторов старения полимерных материалов они, претерпевая химические изменения, через некоторое время могут стать соединениями, отличающимися по химическому составу и структуре от исходных. Таким образом, в определённый момент эти материалы (исходно грибостойкие) начинают подвергаться деструкции и использоваться в качестве источника питания определёнными видами грибов, располагающими соответствующим комплексом метаболитов. Химическое «старение» материалов под воздействием факторов внешней среды способно влиять на такие параметры процесса биоповреждения, как время начала биодеструкции, механизмы деструкции, видовой состав деструкторов и их сукцессию.

Биоповреждение пластических масс, как и других материалов, происходит одновременно с их старением под действием внешних физических и химических факторов. Оба процесса (биоповреждение и старение) усугубляют друг друга (Абрамова и др., 1981). Однако грибостойкость материалов, как правило, определяется непосредственно после их выпуска без учёта фактора старения, имеющего место в процессе эксплуатации пластмасс и могущего повлиять на их устойчивость к грибам. Наиболее достоверные результаты о поведении материалов могут дать испытания, проводимые в природных условиях при естественном заражении, поскольку они позволяют учесть сумму факторов, воздействующих на материалы в естественных условиях (Коровина и др., 1983). Процессы старения и биоповреждения могут протекать одновременно или не совпадать по времени, но в большинстве случаев они взаимно дополняют друг друга, ускоряя и усугубляя разрушение материалов и ухудшая их эксплуатационно-технические свойства.

Известно, что макромолекулы чистых полимеров, как правило, являются биостойкими и не разрушаются микроорганизмами. Подверженность полимерных материалов биоповреждениям определяется

главным образом присутствием в них низкомолекулярных компонентов. Так, установлено, что интенсивное повреждение полиэтилена происходит только после предварительного воздействия на него факторов небиологического характера, приводящих к образованию низкомолекулярных фракций. Микроорганизмы практически не поражают также и резину, пока не произойдёт разрыва длинных цепочек полимера на более короткие.

Важным фактором, способствующим накоплению низкомолекулярных фракций в полимерных материалах (а, следовательно, и снижению их биостойкости), является процесс старения полимеров. Старением принято называть необратимое изменение полезных свойств полимерных материалов, которое происходит с течением времени в результате совокупности химических и физических превращений, происходящих при переработке, хранении и эксплуатации материалов. Способность полимерного материала подвергаться старению зависит от химического состава и строения макромолекулы полимера, молекулярной массы, молекулярно-массового распределения, состава примесей. Старение развивается, как правило, в результате взаимодействия полимера с окружающей средой или внешними факторами. К числу факторов, способствующих старению полимерных материалов, относятся: температура и влажность окружающей воздушной среды, световая и проникающая радиация, кислород, агрессивные газообразные примеси, содержащиеся в воздухе (SO_2 , NO_2 и др.), механические нагрузки от ветра, динамической энергии водяных капель, песка, пыли.

Многочисленными экспериментами показано, что после интенсивного воздействия факторов, вызывающих старение, полимерные материалы утрачивают свою биостойкость и становятся доступными для микробной деструкции. Установлено, например, что окисленные полимерные материалы (полиэтилен, упаковочные пластики и т.д.) утилизируются термофильными актиномицетами и микроскопическими грибами в компостных условиях. При кипячении полиэтилена в 60% азотной кислоте в течение 24 часов

образуются восковые фракции с молекулярной массой 250 у.е., содержащие нитрогруппы. Эти фракции интенсивно утилизируются обширной группой термофильных микромицетов. Снижение молекулярной массы возможно также при воздействии на полиэтилен высоких температур (пиролиз). При этом у полиэтилена высокой плотности образуются фракции с молекулярной массой до 3200 у.е., а у полиэтилена низкой плотности — 2100 у.е. Установлено, что и те и другие фракции поддерживают рост микромицетов и используются ими. В процессе пиролиза образуются также кетоны, являющиеся промежуточными звеньями в метаболических процессах микроорганизмов и легко утилизируемые микромицетами. Что же касается, например, полистирола то даже после пиролиза рост грибов на нём наблюдался. Полистиролы менее устойчивы к термоокислительной деструкции, чем полиэтилен, за счёт присутствия перекисей, которые образуются в процессе полимеризации. При термоокислительной деструкции в первой стадии образуются гидроперекисные группы в α -положении, которые инициируют распад цепи с постепенным уменьшением молекулярной массы. При длительном воздействии света наблюдается слабое пожелтение. В атмосферных условиях после 3-х месяцев появляются микротрещины. Срок службы стабилизированных сажей материалов в умеренном климате 4–5 лет. В холодном климате срок службы снижается до 2–3 лет.

Воздействие на полимерные материалы другого фактора старения — ультрафиолетового облучения (фотодеградация) также способствует их утилизации микроорганизмами. В результате обработки ультрафиолетовым облучением в полимерных цепях синтетических материалов образуются легко доступные для микроорганизмов кетонные группы. В процессе фотодеградации полиолефинов наряду с кетонными группами появляются низкомолекулярные фракции. У полипропилена и полиэтилена под воздействием ультрафиолета отмечено образование карбонильных групп, которые также снижают стойкость материала к биоповреждениям.

Показано, что климатические факторы, выступая как факторы старения, могут снижать устойчивость эластомерных материалов к действию плесневых грибов. Старение в ряде случаев приводит к значительному ухудшению параметров материалов (происходит снижение грибостойкости эластомерных материалов на 1–2 балла). Это, очевидно связано с тем, что в эластомерах под действием ускоренного термического старения происходят структурно-химические превращения, приводящие к снижению стойкости материалов к воздействию микроскопических грибов.

Установлено, что повышенная температура и высокая относительная влажность воздуха, а также перепад дневных и ночных температур стимулируют развитие микроорганизмов на деталях и изделиях, в состав которых входят пластмассы, резина, лакокрасочные покрытия и изоляционные материалы (Рудакова, 1969). Применительно к полимерам согласно Журкову (1943), разрушение происходит в результате больших тепловых флуктуаций, приводящих к разрыву химических связей полимерной цепи. Изменения химических связей полимерной цепи снижают энергию активации разрушения полимера (Покровская, 2003).

Длительное старение полиолефинов под действием атмосферных условий способствует более интенсивному росту микроорганизмов: на 10-е сутки после заражения поверхность покрыта вегетирующим мицелием на 80%, спорообразование активное, споры имеют характерную окраску, отмечается интенсивное образование свободных аминокислот, органических кислот, ферментов. Аналогичное снижение грибостойкости после старения наблюдается для полистиролов. Рост грибов появляется на 2–3 сутки, образование спор наблюдается на 17 сутки.

Процессы старения фенопластов протекают по иному механизму. Для фенопластов с минеральным наполнителем характерно значительное ухудшение состояния поверхности: эрозия, выцветание, появление шероховатости, не сопровождающееся явным снижением физико-

механических свойств. Однако уже через 12–16 месяцев старения в атмосферных условиях грибостойкость ряда марок падает до неудовлетворительной.

При эксплуатации в естественных условиях биоповреждение лакокрасочных покрытий в результате обрастания живыми организмами и агрессивного действия продуктов их жизнедеятельности, как правило, сочетается с повреждающим действием на лакокрасочные покрытия физических и химических внешних факторов, вызывающих старение материалов. Старение материалов способствует развитию биоповреждений.

Т.о., старение влияет на устойчивость материалов к грибам, причём степень влияния зависит от длительности воздействия факторов, вызывающих старение. Наиболее значительные изменения грибостойкости материалов происходят под действием атмосферных условий, являющихся наиболее длительными. Это, по-видимому, приводит к более глубоким изменениям в полимерах в химическом и физическом отношении, что способствует проникновению гифов грибов в материалы и использованию доступных продуктов деструкции в качестве источника питания.

Яскевичусом и сотр. (1979) по поводу изменения механических свойств синтетических материалов в натурных условиях сделаны следующие выводы:

- 1) При испытании материалов в натурных условиях наиболее разрушительное действие оказывает суммарное воздействие атмосферных факторов: солнечная радиация, свет, тепло, атмосферные осадки, перепады температуры, динамические порывы воздушных потоков, твёрдые частицы, переносимые ветром, озон, кислород воздуха;

- 2) Стойкость материалов определяется их химической структурой, ориентация на воздействующие факторы более инертным, имеющим низкие коэффициенты проницаемости материалом, позволяет продлить срок службы материала.

Агрессивность микробиологических факторов находится в тесной взаимосвязи с внешними условиями. Во время испытаний в натурных условиях для микробиологических агентов существует цикличность в условиях развития: благоприятные в тёплое время года, и неблагоприятные зимой. Поскольку повреждение материала и потеря ценных свойств (т.е. старение) является накопительным процессом, то цикличность, возможно, проявляется скачкообразной потерей свойств. Однако в зимние месяцы, особенно в условиях открытой атмосферной площадки, когда температурный режим неблагоприятен для развития микроорганизмов, низкая температура повышает жёсткость материалов (снижая гибкость молекулярных цепей и их подвижность) и динамические воздействия воздушных потоков и осадков вносят свою долю в потерю свойств материалов, дополняя действие микроорганизмов и даже затушёвывая их вследствие своего превосходства (Яскелявичус и др., 1981).

А.И. Реутовым (2009) показано, что с повышением толщины образцов увеличивается стойкость полимерного материала к старению. Среднее квадратическое отклонение предела текучести при растяжении вначале с увеличением времени старения возрастает, а затем после достижения предельного значения снижается.

Для материала БСПЭ 22007-16 в течение трех лет старения в умеренном климате у стандартных образцов толщиной 2 мм потеря прочности происходит в 18 раз, у образцов толщиной 3 мм – в 3,3 раза, у образцов толщиной 8 мм потеря прочности по отношению к исходному значению в 1,4 раза.

Материалы на основе полипропилена, как и другие термопласты, склонны к старению при эксплуатации изделий из них в атмосферных условиях холодного климата. Кроме того, температура хрупкости полипропилена – около минус 18 °С. Были созданы морозостойкие

рецептуры на основе полипропилена, изучено поведение этих материалов под воздействием холодного климата.

Материалы МПП 15-04 и БСПЭ 22007-16 после первых месяцев экспонирования теряют блеск, после 6 месяцев хорошо заметна сеть микротрещин на поверхности образцов. После 6 месяцев экспонирования у нестабилизированных к ультрафиолетовому излучению материалов МПП 15-04 и БСПЭ 22007-16 резко ухудшаются свойства. Полученные результаты свидетельствуют о том, что кроме повышения морозостойкости композиций на основе полипропилена необходимо обратить особое внимание на фотостабилизацию морозостойкого полипропилена.

Образцы термопласта МПП 15-04, бесцветный толщиной 1 мм после трех лет экспонирования почти полностью теряют прочность. У стандартных образцов толщиной 2 мм потеря прочности наблюдается в 2,4 раза, у образцов толщиной 3 мм – в 1,8 раза. У образцов толщиной 8 мм в течение трех лет старения потери прочности по отношению к исходному значению практически не происходит.

Образцы из материала БСПЭ 22007-16 толщиной 1 мм в течение двух лет экспонирования, а образцы толщиной 2 мм за три года старения полностью теряют прочность. Образцы из этого материала толщиной 3 мм за три года старения теряют прочность более чем в 2 раза, а образцы толщиной 8 мм – в 1,15 раза.

Влияние ультрафиолетового облучения приводит к деструкции материала, появлению свободных радикалов. У материала МПП 15-04 901, светостабилизированного техническим углеродом (сажей), не наблюдается существенного изменения свойств.

В процессе эксплуатации материал подвергается различным внешним воздействиям (УФ- облучению, тепловому старению, жидким агрессивным средам, в том числе и воде). В процессе эксплуатации под действием УФ- облучения и повышенных температур происходит старение древесных

материалов, приводящее к изменению структуры материала. Нарушение связей в композитных материалах проявляется и в закономерностях набухания. Так, для древесных композитов после термо- и фотостарения характер зависимостей сохраняется, однако относительная величина набухания уменьшается, что можно объяснить изменениям количества связей. Таким образом, после термо- и фото старения макроструктура древесных композитов, определяемая наполнителем, сохраняется, однако происходит разрушение или образование новых связей в смоле (Киселева, Ярцев, 2008).

Влияние старения по-разному сказывается на прочности и долговечности древесных материалов. При тепловом старении прочность древесины цельного и клееного сечения снижается незначительно; прочность древесностружечных и древесноволокнистых существенно падает, а фанеры растет. Наибольшее падение прочности наблюдается у древесноволокнистых плит. При УФ-облучении прочность натуральной древесины увеличивается на 30%. На модифицированную парафином древесину УФ-облучение также действует положительно, а на модифицированную полимерами отрицательно (Киселева, 2006).

В настоящее время при разработке новых полимерных материалов их стойкость к климатическому старению определяется исходя из проведения ускоренных лабораторных климатических испытаний (УКИ). Следует отметить, что важнейшим условием использования УКИ для прогнозирования свойств полимеров является идентичность механизмов старения в натурных климатических условиях и при ускоренных испытаниях. Только в этом случае результаты ускоренных испытаний можно применять для целей прогнозирования старения полимерных материалов (Кириллов и др., 2002).

Изучение процессов, идущих при интенсивном воздействии на полимеры агрессивных факторов внешней среды («ускоренное старение»)

важно для понимания механизмов снижения биостойкости полимерных материалов и, кроме того, имеет значение для решения проблемы утилизации синтетических полимеров (Анисимов и др., 1987). В связи с чем испытания по оценке грибостойкости материалов могут быть дополнены испытаниями по влиянию различных факторов внешней среды. Стандартные методы испытаний материалов на устойчивость к воздействию микроскопических грибов могут рассматриваться лишь в качестве предварительных. Оценка грибостойкости в лабораторных условиях может быть неверной, так как при хранении или эксплуатации данных материалов при действии на них факторов старения их грибостойкость может изменяться. Чтобы располагать более достоверной оценкой грибостойкости необходимо иметь результаты испытаний полимерных композиций в условиях эксплуатации и хранения. В лабораторных методах испытаний в качестве обязательных следует предусмотреть исследования на грибостойкость полимерных композиций, предварительно подвергнутых действию факторов старения (Смирнов и др., 2000).

Таким образом, проведённый нами аналитический обзор литературы по теме диссертации показал, что имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что состав, биосинтетические свойства микроорганизмов-деструкторов и их способность развиваться на материалах и вызывать повреждения изделий изучены достаточно полно, но, к сожалению, отсутствуют данные о биостойкости полимерных материалов, защищенных биоцидами в естественных условиях эксплуатации. Также мало освещен вопрос о воздействии абиотических (физических) факторов внешней среды на деструктивные способности микромицетов.

Вместе с тем, используемые средства и методы защиты, а также общий подход к их разработке (эмпирический) нередко оказываются малоэффективными. Такой подход, направленный на то, чтобы защититься

от уже известных человеку биоповреждающих ситуаций в настоящее время является лидирующим. Однако такой эмпирический подход имеет ряд существенных недостатков.

Во-первых, он не обеспечивает прогнозирования биостойкости материалов и не предусматривает защиту от биоповреждений на стадии разработки материалов и изделий из них. А между тем такая задача очень важна: материалы должны обладать экологической резистентностью, – работать в биосфере положенное им время и отработав разрушаться, не загрязняя окружающую среду. В настоящее время появляются все новые искусственные материалы и биосфера использует против них все новые средства и формы вовлечения их в круговорот веществ, – отношения между живыми организмами и повреждаемыми ими объектами приобретают все более сложный характер.

Во-вторых, эмпирический подход не учитывает связей биоповреждающего агента с окружающей средой, – это обстоятельство существенно влияет на биоповреждающий агент и средства защиты, которые против него применяют. Знание разных сторон экологии биодеструкторов дает основу для сознательного подбора мероприятий по защите от них материалов и изделий. Не учитывать этого обстоятельства совершенно недопустимо.

Человек в результате своей деятельности постоянно вносит в окружающую среду различные промышленные материалы антропогенного происхождения, которые вступают в сложные взаимоотношения с живыми организмами, в частности микроорганизмами. В одних случаях материалы активно подвергаются утилизации, в других – остаются индифферентными в течение определенного периода, в третьих могут оказывать угнетающее действие на их жизнедеятельность. Следует отметить, что человек способен регулировать данные взаимоотношения между антропогенным субстратом и микроорганизмами (через степень устойчивости промышленных материалов).

С тех пор как человечество впервые столкнулось с двумя взаимосвязанными проблемами: биоповреждения материалов и изделий, обладающих полезными эксплуатационными свойствами, и накопления в биосфере плохо утилизируемых отходов, мы постоянно пытаемся научиться управлять процессами биоповреждения и биоразрушения.

Успешное решение вышеописанной проблемы во многом связано с развитием представлений о природе реального процесса микробиологического повреждения материалов и наличием объективной информации о закономерностях его возникновения, протекания и возможностях регулирования. Однако в настоящее время механизм биоповреждения рассматривается, как правило, с позиции биохимических превращений материала, вызываемых биодеструктором и обеспечивающих возможность его ассимиляции. Не принимается во внимание тезис о примате среды как главного фактора, определяющего возникновение, течение и результат биоповреждающего процесса. Тезис о примате среды можно сформулировать следующим образом: «Окружающая среда, опосредуясь через экологические факторы становится участником биоповреждающего процесса».

Вследствие недостаточной изученности экологического аспекта проблемы биоповреждений снижается эффективность прогнозирования, ранней диагностики и целенаправленной защиты полимерных материалов от микробиологических повреждений в естественных условиях эксплуатации.

Всё вышеизложенное определило основные цели и задачи данного диссертационного исследования.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1.1. Объем экспериментальных данных

Объем экспериментальных данных, полученных в ходе выполнения диссертационного исследования, представлен в таблице 2.1

Таблица 2.1

Объем экспериментальных данных

Вид эксперимента	Количество тест-культур	Общее количество экспериментов
Исследование биостойких свойств		
7 синтетических промышленных полимерных материалов	20	140
18 гибридных полимерных композиций	20	360
Исследование биостойких свойств у полимеров, подвергнутых воздействию факторов климатического старения		
9 синтетических промышленных полимерных материалов	15	135
1 гибридная полимерная композиция	15	15
действие факторов климатического старения на биостойкость и биоцидную активность у 3-х полимерных композиций и 3-х веществ, тормозящих их биодеструкцию.	2	14
Исследование влияния различных значений температуры и влажности на деструктивную активность микромицетов		
Рост на чашках Петри	2	18
Рост на материале	16	64
Исследование роли экзоферментов в процессе деструкции полимерных композиций		
определение экзохитиназной активности	4	6
определение экзохитозаназной активности	4	14
определение экзоамилазной активности	4	8
определение экзоэстеразной активности	3	4
исследование эффектов действия факторов, тормозящих биодеструкцию на активность экзоферментов	5	18
Исследование влияния ЭМИ на физиолого-биохимические показатели микромицетов-деструкторов		
влияние на рост мицелия и выживаемость спор	10	110
влияние на активность внеклеточной пероксидазы и каталазы	2	8
Исследование фунгицидного и биозащитного эффектов сочетанного действия физических и химических факторов		
фунгицидный эффект	10	10
биозащитный эффект	1	6

Также в ходе выполнения диссертационного исследования были выполнены следующие научно—исследовательские работы:

1. Проведена сравнительная оценка устойчивости к действию грибов 3-х синтетических промышленных полимерных материалов при испытаниях стандартным и модифицированным методами.
2. Выявлены природные деструкторы полимерных композиций на основе хитозана, крахмала и целлюлозы с акриловыми и виниловыми полимерами: выделено в чистые культуры 168 изолятов, относящихся к 3 классам, 4 порядкам, 5 семействам, 27 видам.
3. Исследовано действие микромицетов-деструкторов на основные физико-механические свойства 8-ми полимерных материалов.
4. Создан алгоритм получения полимерных материалов с регулируемой биостойкостью.

2.1.2. Объекты исследований

Объектами испытаний на устойчивость к действию микроорганизмов служили следующие полимерные композиции: пленки хитозана (ХТЗ), полученные методом полива из водных растворов уксусной и соляной кислот; полимерные пленки поливинилпирролидона (ПВПД) и поливинилового спирта (ПВС); пленки из механических смесей ХТЗ+ПВПД и ХТЗ+ПВС; привитые сополимеры акрилонитрила на хитозан; образцы бумаги, модифицированные хитозаном, метакрилатом, сополимерами или их смесями; сополимеры картофельного крахмала с метакрилатом; блок-сополимеры хитозана с полиакриламидом.

Привитой сополимер хитозана с метилакрилатом (Прив. сп. ХТЗ – МА). Блок- сополимер хитозана с метилакрилатом (Блок-сп.ХТЗ – МА). Привитой сополимер хитозана с акриламидом (Прив. сп. ХТЗ – АА). Смесь привитого сополимера хитозан – акриламид с полиакриламидом (ПАА), взятых 1:1.7 по массе, соответственно. Привитой сополимер хитозана с

акрилонитрилом (Прив. сп. ХТЗ-АН). Блок - сополимер ацетата хитозана с метилакрилатом (Блок-сп. ХТЗ-МА солевая форма). Смесь поливинилового спирта с крахмалом (ПВС- крахмал).

А также ряд композиций на основе ПВХ (см. таблицу 2.2).

Таблица 2.2

Составы композиций в массовых частях

Вид наполнителя	ПВХ порошкообразный	Пластификатор диоктилфталат	Наполнитель
хитозан	1	1	0.1
хитозан	1	1	0.2
сосновые опилки	1	1	0.2
сосновые опилки	1	2	0.5
этилметилцеллюлоза	1	1	0.2
оксиэтилцеллюлоза	1	1	0.2
крахмал	1	1	0.5

А так же ряд лакокрасочных материалов, клеев, герметиков и пластиков, используемых в промышленности и медицине:

1. Клей «Лейконат» (ТУ 6-05-251-128-82)
2. Клей-мастика ГИПК-23-12 (ОСТ 5.8224-81)
3. Герметик УТ-34 (ТУ 221-019-00203521-96)
4. Компаунд ЭЗК-6 (ГОСТ 24285-80)
5. Лак ФЛ-98 (ТУ 2296-004-39903592-00)
6. Эмаль ПФ-115 белая (ГОСТ 12294-66)
7. Эмаль МЛ-12 серая (ГОСТ 12295-66)
8. Пластик АБС-2020-31 (ТУ 6.05-1587-84)
9. Полистирол УПС-825Д (ТУ 6.05-1588-84)
- 10.Стеклотекстолит СТЭФ-1 (ГОСТ 12652-74)
- 11.Краска масляная МА-15 (ТУ 2317-015-45822449-99)
- 12.Краска водоэмульсионная ВД-КЧ 22 (ТУ 2316-001-45145919-96)

13. Нити хирургические шовные

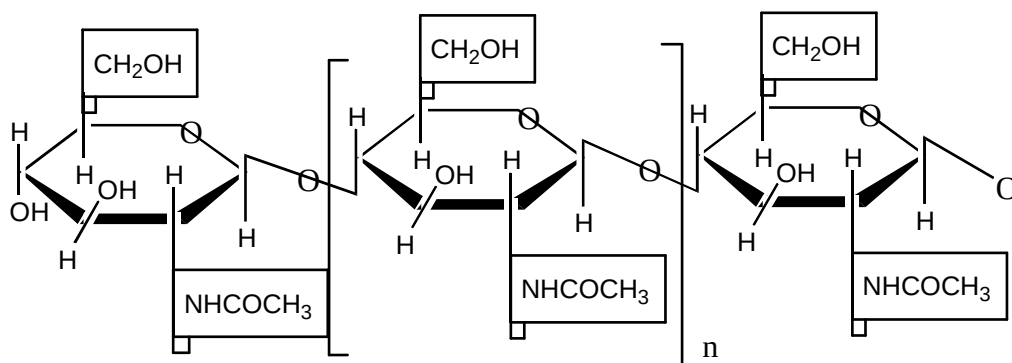
14. Полиамиды марки «ПА-6-211-ДС неокрашенный» и «ПА-6-211-ДС-КЭ окрашенный»

15. Эмульсия Акрэмос 203 Б

Компоненты полимерных композиций:

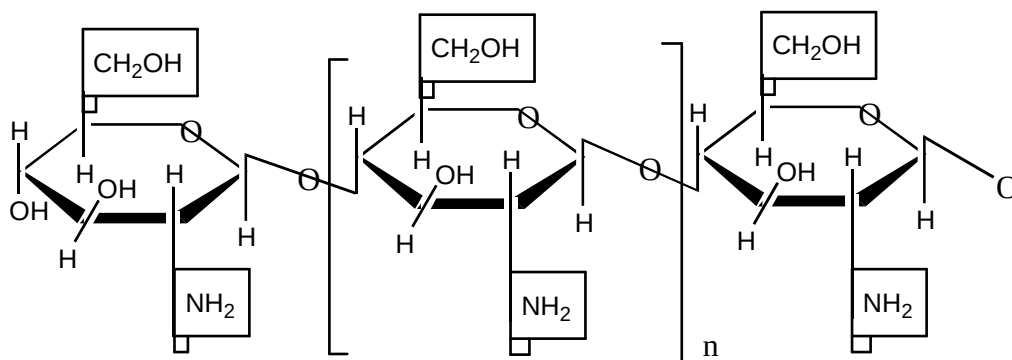
Хитин – ХТ

Линейный аминополисахарид, состоящий из N-ацетил-2-амино-2-дезоксид-гликопиранозных звеньев — широко распространённый в природе структурный полисахарид, который входит в состав кутикулы или наружного скелета представителей *Artropoda*, аннелид, моллюсков, погонофор, грибов и некоторых водорослей, является полимером, состоящим из неразветвлённой цепи β -(1 $\rightarrow$ 4)-связанных остатков 2-ацетамидо-2-дезоксид-глюкозы (N-ацетил-D-глюкозамин). Представляет собой твёрдое вещество белого цвета, обладает следующими химическими свойствами: слабо набухает в растворах щелочей, но сравнительно легко растворяется в концентрированных соляной и серной кислотах, из которых он может быть выделен без изменения.



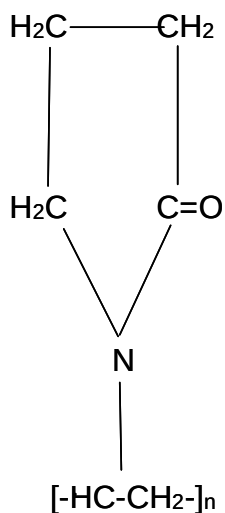
Хитозан – ХТЗ

Производитель ЗАО «Биопрогресс», п. Биокомбинат, Московская обл. Деацетилированный хитин, полимер глюкозамина и N-ацетилглюкозамина, полученный из панцирей краба, с молекулярной массой (ММ) 120×10^3 и степенью деацетилирования 80-82% без дополнительной очистки. Хитозан растворяли в разбавленном растворе уксусной кислоты. Использовали уксусную кислоту (УК) марки «ХЧ» ГОСТ 61-75 (99,5%): ММ = 60 г/моль, $T_{пл} = 16,6^\circ \text{C}$, плотность – $1,049 \text{ г/см}^3$.



Поливинилпирролидон – ПВПД

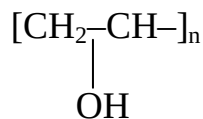
бесцветная жидкость; $M_r = 2 \cdot 10^5$; $\rho = 1,19 \text{ г/см}^3$; $t_{разл} = 230 \div 270^\circ \text{C}$



Поливиниловый спирт – ПВС

$M_r = 5 \cdot 10^5 \div 1 \cdot 10^5$; $\rho = 1,2-1,3 \text{ г/см}^3$; $t_{пл} = 220 \div 232^\circ \text{ C}$;

степень замещения = 72%

Акрилонитрил – АН

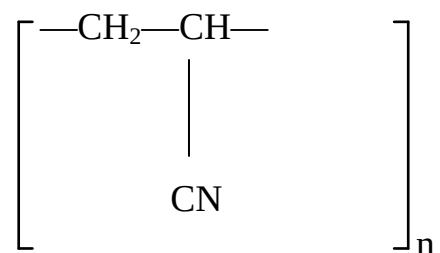
бесцветная жидкость; $t_{кип} = 77,3^\circ \text{ C}$; $t_{плавл} = -83 \div -84^\circ \text{ C}$

содержание основного вещества = 99,2%

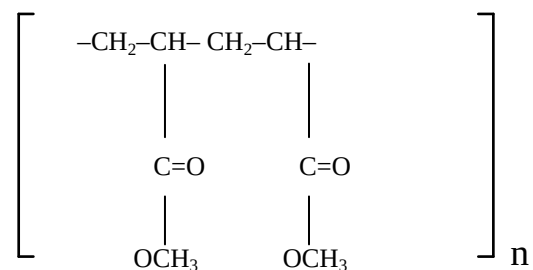
Полиакрилонитрил – ПАН

Труднокристаллизирующийся полимер белого цвета

$\rho = 1,14-1,15 \text{ г/см}^3$; относительное удлинение = 10–35%

Полиметилакрилат – ПМА

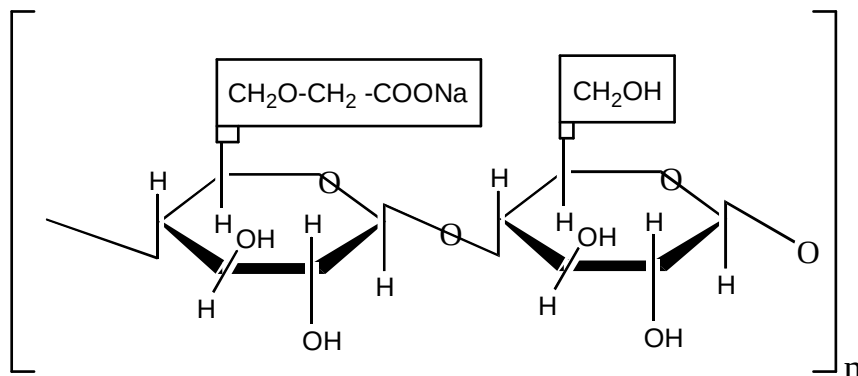
Бесцветная прозрачная жидкость, растворим в спиртах, кетонах, эфирах, ароматических углеводородах. $M_r = 86 \text{ г/моль}$, $T_{кип} = 80,2^\circ \text{ C}$, плотность – $0,950 \text{ г/см}^3 (25^\circ \text{ C})$



Натрий-карбоксиметилцеллюлоза – Na-КМЦ

Марка: Cel pol (Бельгия)

степень полимеризации = 1200; степень замещения = 70%

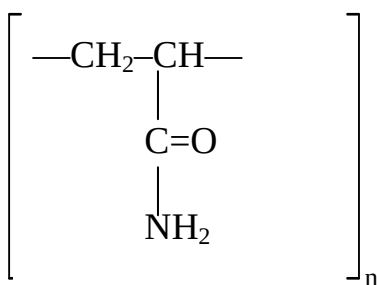


Картофельный крахмал (ТУ 2638–025–00334735–26)

Полиакриламид – пАА

Вязкость = 124,8 сПз (для 2% раствора); $\rho = 1,002$ мг/мл

Кристаллическое вещество белого цвета, растворим в воде, метаноле, этаноле, ацетоне, диоксане, хлороформе. ММ = 71,1 г/моль, $T_{пл} = 84,5^\circ\text{C}$.



Концентрированная соляная кислота (HCl 36,8%) – бесцветная жидкость с острым запахом хлористого водорода, раствор имеет плотность $1,18 \text{ г/см}^3$.

В качестве инициатора блок-сополимеризации виниловых мономеров в растворах хитозана использовали окислительно-восстановительную систему

на основе пероксида водорода ($\rho(25\% \text{ раствора}) = 1,4 \text{ г/моль}$) и аскорбиновой кислоты.

В качестве инициатора привитой сополимеризации виниловых мономеров на хитозан использовали динитрил азоизомасляной кислоты (ДАК), $MM = 164 \text{ г/моль}$, $T_{пл} = 106^\circ\text{C}$.

Объектами исследований фунгицидной активности служили различные группы соединений:

1. масла – продукты, содержащие природные терпеноиды, в частности сосновое и пихтовое масло
2. соли низкомолекулярного природного полимера – хитозана, в частности 10% раствор аскорбата хитозана и 10% раствор сукцината хитозана
3. соли тяжелых металлов, в частности 5% раствор хлорида кобальта (II) и 5% раствор нитрата кобальта (II); соединения кобальта: $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$; $\text{Co}[\text{Co}(\text{CO}_3)_6]$
4. Средство дезинфицирующее с моющим эффектом «Авансепт». Содержит 6% полигексаметиленгуанидин гидрохлорид и 4,5% алкилдиметилбензиламмоний хлорид в качестве действующих веществ, а также вспомогательные компоненты: краситель, отдушку и воду. Производитель ООО «МК ВИТА-ПУЛ», Россия.
5. Водный раствор гипохлорида натрия (NaClO). Данное вещество применяется для обеззараживания поверхностей, посуды, белья, выделений больного, санитарно-технического оборудования, уборочного инвентаря. Также применяется для обеззараживания питьевой воды, воды в бассейнах, для отбеливания тканей и целлюлозы, в качестве окислителя в химических производствах, для дезинфекции и обеззараживания сточных вод.

Ряд веществ из группы вышеуказанных впоследствии использовались в качестве биоцидных присадок для защиты некоторых из приведенных выше материалов.

Использовались следующие ингибиторы метаболизма микромицетов, – биоциды: экодез (действующее вещество – алкилдиметилбензиламмоний хлорид) в концентрации 0,005%; KATHON LXE (производное бензтиазола) в концентрации 0,0005; сульфат меди в концентрации 0,01%. В качестве активатора метаболизма микромицетов использовался хлорид кальция в концентрации 0,05%.

Источником ЭМИ КВЧ служили

1. аппарат «СЕМ ТЕСН», производимый ООО «Спинор» (г. Томск), в настоящее время используемый для КВЧ- и ИК-терапии в стационарных, амбулаторных и домашних условиях. При подключении излучателей на их поверхности обеспечивается плотность потока импульсной мощности 5×10^{-10} Вт/см². Частота импульсов излучения – фиксированная – 9 Гц. Аппарат имеет набор сменных излучателей, частотно-волновые характеристики которых приведены в таблице 2.3.
2. аппарат КВЧ-терапии шумовым излучением АМФИТ-02/10-01 (ТУ 9444-005-02070387-96). Диапазон рабочих частот 53,57–78,33 ГГц. Спектральная плотность мощности шума 2×10^{-18} – 4×10^{-16} Вт/Гц. Интегральная мощность излучения не менее 0,2 мВт.

Источником ультрафиолетового излучения служил: облучатель ультрафиолетовый кварцевый ОУФК-01 «Солнышко», производимый ОАО «ГЗАС им. А.С. Попова» (г. Нижний Новгород) Эффективный спектральный диапазон излучения: 230-400 нм. Облученность в эффективном спектральном диапазоне: 1,0 Вт/м². Генератором УФ-лучей в данном приборе является лампа бактерицидная ДРТ 125-1 (ТУ 16-675.013-83) ультрафиолетовая, разрядная, ртутная, высокого давления, дуговая, трубчатая, предназначенная для работы в установках, применяемых в медицине, биологии, сельском

хозяйстве. Лампа рассчитана для работы в сети переменного тока частоты 50 Гц напряжением 220 В с соответствующим активным балластным сопротивлением.

Таблица 2.3

Частотно-волновые характеристики излучателей
аппарата «СЕМ ТЕСН»

Номер излучателя	Частота	Длина волны
1	40 – 100 ГГц	9.677 – 8.333 мм
2	40 – 43 ГГц	7.500 – 6.977 мм
3	52 – 57 ГГц	5.769 – 5.263 мм
4	57 – 63 ГГц	5.263 – 4.762 мм
5	153 – 458 ТГц	0.4 – 1.2 мкм

В биохимических экспериментах использовались следующие штаммы микроскопических грибов: *Alternaria alternata* (Fries) Keissler; *Aspergillus niger* van Tieghem; *A. oryzae* (Ahlburg) Cohn.; *A. amstelodami* (Mangin) Thom et Church; *Aspergillus terreus* Thom; *Penicillium cyclopium* Westling; *Paecilomyces variotii* Bainier. А также «дикие» штаммы *Paecilomyces* sp. НУ-10 и *Penicillium* sp. НУ-12, выделенные из воздуха.

2.1.3. Основные методы исследований

Стерилизация питательных сред проводилась насыщенным паром под давлением. Среды стерилизовали в пробирках и колбах. Емкости заполняли средой не более чем на половину их высоты, чтобы предотвратить смачивание пробок. Сосуды со средами закрывали плотными ватными пробками.

Стерилизацию стеклянной посуды проводили обработкой сухим горячим воздухом при температуре не выше 180 °С в течение 1–3 ч. Стерилизацию осуществляли в специальных суховоздушных (сухожаровых)

стерилизаторах. Посуда перед стерилизацией была тщательно вымыта и завернута в бумагу для сохранения стерильности после прогревания. Посуду разворачивали непосредственно перед употреблением. Для автоклавирования посуду готовят, как и для сухожаровой стерилизации (Теппер и др., 2004).

Исследование способности служить источником питания для
микромицетов и фунгицидных свойств у полимерных материалов

Испытания полимерных материалов на способность служить источником питания для микромицетов (грибостойкость) и наличие у них (их компонентов) фунгицидных свойств проводили согласно стандартным методам, – ГОСТ 9.049-91 (по методам 1 и 3) и ГОСТ 9.050-75 (по методам 1 и 2). В качестве тест-организмов использовали штаммы 17 видов микроскопических грибов, известных как активные деструкторы различных материалов, из коллекции ВКМ: *Aspergillus terreus* Thom, *Aspergillus amstelodami* (Mangin) Thom et Church, *Aspergillus niger* van Tieghem, *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn., *Aureobasidium pullulans* (Bubak) W. B. Cooke, *Alternaria alternata* (Fries) Keissler, *Chaetomium globosum* Kunze, *Fusarium moniliforme* Sheldon, *Penicillium ochro-chloron* Biourge, *Penicillium cyclopium* Westling, *Penicillium chrysogenum* Thom, *Penicillium funiculosum* Thom, *Penicillium brevi-compactum* Dierckx, *Paecilomyces variotii* Bainier, *Penicillium martensii* Biourge, *Scopulariopsis brevicaulis* (Saccardo) Bainier, *Trichoderma viride* Persoon.

Метод 1 устанавливает, является ли материал источником питания для развития грибов без дополнительных источников минерального и органического питания.

Испытания по методу 1

Приспособления и чашки Петри с образцами переносят в бокс и поверхность образцов заражают суспензией спор грибов путём равномерного нанесения её с помощью пульверизатора, не допуская слияния капель. Заражённые образцы выдерживают в боксе при температуре $25 \pm 10^\circ \text{C}$ и

относительной влажности воздуха до 80% до высыхания капель, но не более 60 мин. Образцы и контрольные чашки Петри помещают в камеру, на дно которой налита вода. Камеру закрывают.

Испытания проводят при температуре $29\pm 2^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности воздуха более 90%. В камере не допускается конденсация влаги, принудительная вентиляция и воздействие прямого естественного или искусственного освещения. Продолжительность испытаний составляет 28 суток.

Метод 2 (ГОСТ 9.050-75) и метод 3 (ГОСТ 9.049-91) позволяют устанавливать наличие фунгицидных свойств, а также грибостойкость материалов и их компонентов на средах, содержащих минеральные и органические вещества.

Испытания по методу 2 (3)

Готовят среду Чапека-Докса с агаром. Посуду и среду стерилизуют. При определении фунгицидных свойств среду Чапека-Докса с агаром разливают в чашки Петри в количестве 20-30 см³ и дают ей застыть. В центре чашки Петри в толще питательной среды делают лунку с помощью бура, диаметр лунки 5 мм. В лунку помещают исследуемый раствор таким образом, чтобы он не растекался по поверхности питательной среды.

Поверхность питательной среды и исследуемых образцов заражают водной суспензией грибов путем равномерного нанесения ее с помощью пульверизатора, не допуская слияния капель. Количество спор грибов в 1 мл суспензии составляет 1-2 млн. Для исследований применяют два типа суспензий:

- 1) суспензия смеси спор грибов № 1-8;
- 2) суспензия спор грибов №9.

Контрольные чашки Петри и чашки с исследуемыми образцами помещают в климатическую камеру (термостат). Испытания проводят при температуре $29\pm 2^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности воздуха более 90%.

Продолжительность испытаний с момента установления режима от 14 до 28 суток.

По окончании испытаний чашки Петри извлекают из камеры (термостата), осматривают невооруженным глазом и при увеличении 56-60^x и проводят оценку фунгицидных свойств материала.

Образец считался грибостойким, если по методу 1 получает оценку 0-2 балла (ГОСТ 9.049-91, 9.050-75). Образец считался фунгицидным, если по методу 2 (ГОСТ 9.050-75) и 3 (ГОСТ 9.049-91) получил оценку — 0-1 балл.

Посев на косой агар штрихом

Правой рукой берут петлю и прожигают её на пламени горелки докрасна.левой рукой между большим и указательным пальцем держат пробирку с агаром почти в горизонтальном положении, чтобы во время посева в неё не падали микробы из воздуха. Легким вращательным движением освобождают пробку и мизинцем правой руки вытаскивают её из пробирки. Край пробирки слегка обжигают. Петлей забирают небольшое количество материала и зигзагообразными движениями размазывают по поверхности агара в пробирке. После произведенного посева петлю извлекают из пробирки, обжигают её края и закрывают пробкой. Затем снова прожигают петлю в пламени горелки, чтобы уничтожить оставшихся на ней микробов (Утевский, 1956).

Посев уколом

Материал, подлежащий посеву, берут иглой, которую отвесно вкалывают в поверхность агара и продвигают по оси до самого дна. Иглу затем извлекают и обжигают (Утевский, 1956).

Посев градуированной пипеткой

Пробирки держат под небольшим углом, пипетку проводят через пламя и, сняв пробки, опускают в пробирку, затем насасывают определенное количество материала, переносят его в питательную среду и выдувают. Пробирки закрывают, а пипетки помещают в дезинфицирующий раствор.

Техника посева на чашку Петри с застывшим агаром

При посеве пипеткой на поверхность агара наносят 1 мл исследуемого материала (суспензии спор). Затем, приоткрыв чашку, прокаленным и остуженным стеклянным шпателем растирают каплю по всей поверхности, производя легкие поглаживающие движения во все стороны по поверхности агара (Утевский, 1956).

Приготовление суспензии спор

Приготовление суспензии производится так же, как и посев на агар, но все манипуляции следует производить осторожно, чтобы вода не вылилась из пробирки или не смочила её края. Материал, внесенный в пробирку, размазывают по стенке или взбалтывают в воде (Смирнов и др., 2002).

Методика количественного определения микромицетов

На застывшую среду наносят взвесь культуры испытуемого микромицета. Обычно берут смыв культуры с агарового косяка значительной мутности (на глаз). Для точного учета вносимого инфекта плотность взвеси определяют по бактериальному стандарту, учитывая при этом, что величина грибковых элементов примерно в 10 раз превышает величину бактерий (например, 2 млрд. микробных тел в 1 мл по стандарту соответствуют 2000000000 грибковых тел в 1 мл.); для максимально высокой точности можно просчитать грибковые элементы в счетной камере. Число чашек определяется количеством испытуемых препаратов и степенью повторности опытов; кроме того, еще 1 – 2 чашки оставляют как контрольные, с которыми не производят дальнейших опытов. Нанесенную взвесь равномерно растирают шпателем по поверхности агара. Через 72 часа и окончательно через 5 суток подсчитывают общее число колоний микромицетов. На чашке учитывают все колонии грибов, даже если их число менее 30 (Сливкин и др., 1999; Хабриев, 2005).

Подсчет выросших колоний

Колонии грибов в зависимости от скорости роста подсчитывают через 2-14 суток инкубации. Подсчет, как правило, проводят, не открывая чашек Петри. Для удобства каждую колонию отмечают точкой на наружной стороне дна чашки. При большом количестве колоний дно чашки делят на сектора, просчитывают колонии в каждом секторе и суммируют результаты.

Подсчет выросших колоний в наших экспериментах производился в счетчике колоний микроорганизмов «СКМ-1» (производитель Фабрика НВ-групп, г. Москва). Данный прибор предназначен для счета колоний микроорганизмов в кристаллизационных чашках (чашках Петри), путем нанесения электропером точек на дно чашки в местах нахождения колоний, при этом счетчик производит фиксацию факта касания звуковым сигналом и индицирует полученный результат на цифровом табло.

Ингибирующий эффект (ΔT) в процентах к контролю оценивался по сравнению количеств колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл суспензии, выросших на поверхности среды в контроле и опыте.

Величину ΔT рассчитывали по формуле:

$$\Delta T = \frac{t_0 - t_1}{t_0} \times 100,$$

где: t_0 – количество КОЕ в контроле; t_1 – количество КОЕ в опыте (Kryazhev et al., 2010).

Измерение линейного роста колоний

Для определения линейного роста измеряли радиус колоний (от места посева до конца зоны роста мицелия), растущих на плотной среде в чашках Петри с одинаковым слоем среды, через определённые промежутки времени. Изучаемый гриб высевали в центр поверхности плотной питательной среды немногочисленным инокулюмом всегда одной плотности. Диаметр колонии измеряют в двух взаимоперпендикулярных направлениях в трёх повторностях через определённые промежутки

времени. Результаты измерений изображают графически в равномерной или логарифмической шкале (Утевский, 1956).

Подавление роста в процентах к контролю (ΔR) оценивалось по сравнению диаметров выросших на поверхности среды Чапека-Докса в контроле и опыте колоний на 3, 5, 7, 10 и 14 сутки культивирования.

Величину ΔR рассчитывали по формуле:

$$\Delta R = 100 - \left(\frac{d_0 - d_1}{d_0} \times 100 \right),$$

где: d_0 – диаметр колоний в контроле (мм); d_1 – диаметр колоний в опыте (мм) опыте (Kryazhev et al., 2010).

Выделение и идентификация «диких» штаммов грибов – деструкторов полимерных композиций

Полимерные композиции, не очищенные от внешних загрязнений, помещались в оранжереи тропической и субтропической растительности ботанического сада ННГУ. Условия: влажность 90-95%, температура $28 \pm 2^\circ\text{C}$ на 2,5 месяца. После чего визуально (невооруженным глазом) и при увеличении $\times 56$ под бинокулярной лупой регистрировали на их поверхности рост микромицетов, которые высевали в чистую культуру.

Для выделения чистой культуры исследуемый материал сеяли на плотную среду Чапека-Докса и выращивали в течение 2–4 нед. при $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Полученные колонии идентифицируют по морфологическим, культуральным и биологическим свойствам (Воробьев и др., 2003).

Идентификацию микромицетов проводили на основании их морфолого-культуральных особенностей, используя определители и пособия:

К.В. Raper, Ch. Thom, D.I. Fennell (1949); М.А. Литвинов (1967); Т.С. Кириленко (1977); К.Н. Domsch, W. Gams, T.N. Anderson (1980); А.Ю. Лугаускас, А.Н. Микульскене, Д.Ю. Шляужене (1987); В.И. Билай, Э.З. Коваль (1988).

Культуральные признаки грибов описывали на плотных питательных средах в чашках Петри. При описании культуральных признаков грибов отмечали внешний вид колоний, текстуру колоний, окраску колоний, диффузию пигмента в агар, складчатость колонии, наличие экссудата.

Для характеристики морфологических признаков сначала рассматривали чашки при малом увеличении, а затем готовили микроскопический препарат – раздавленная капля (Саттон, 2001).

Подавление роста грибов (R%) рассчитывали по формуле Эбота:

$$R = \frac{(d_0 - d_1) \times 100}{d_0},$$

где d_0 – диаметр колоний в контроле (мм);

d_1 – диаметр колоний в опыте

Действие факторов климатического старения моделировалось в климатических камерах TSK-300 по методике искусственного старения «Шоковый термоудар», а так же с учётом рекомендаций программы «Мороз–6». Действие климатических факторов осуществлялось в следующих параметрах: влажность 98%; облучение ультрафиолетом при длине волны 280 н.м., интенсивность излучения 90 Вт/м²; температурные пределы от –50 до +40° С.

Указанные выше биоцидные соединения подвергали воздействию следующих климатических факторов:

1. ультрафиолетовое облучение при длине волны 280 н.м., интенсивность излучения 90 Вт/м², время облучения 25 ч;
2. действие высоких температур: +50±2°С, время воздействия 170 ч;
3. действие низких температур: -15±2°С, время воздействия 170 ч.

При изучении действия факторов климатического старения на полимерные материалы с введенными биоцидными добавками использовался «Шоковый термоудар». В экспериментах имитировались сроки эксплуатации материалов в природных условиях от 1-3 лет.

Воздействие на образцы полимерных композиций высокой температуры осуществлялось согласно нормативам ГОСТ 28200-89. Основные методы испытаний на воздействие внешних факторов. Часть 2. Испытания. Испытание В: Сухое тепло. Образцы выдерживались 2 часа при температуре $+55\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Воздействие на образцы полимерных композиций низкой температуры осуществлялось согласно нормативам ГОСТ 28199-89. Основные методы испытаний на воздействие внешних факторов. Часть 2. Испытания. Испытание А: Холод. Образцы выдерживались 72 часа при температуре $-10\pm 3^{\circ}\text{C}$.

Воздействие на образцы полимерных композиций ультрафиолетового излучения осуществлялось согласно нормативам ГОСТ 28202-89. Основные методы испытаний на воздействие внешних факторов. Часть 2. Испытания. Испытание Sa: Имитированная солнечная радиация на уровне земной поверхности. Образцы подвергались воздействию ультрафиолетового облучения (источник УФ-лампа ДБ-30; облученность в эффективном спектральном диапазоне $1,12 \text{ Вт/м}^2$) по следующей методике: 24-часовой цикл, состоящий из 4-часовой фазы облучения и 20-часовой темновой фазы и повторяемый 3 раза. Доза облучения по данному методу составила $16,128 \text{ кВт/м}^2$ за цикл, что приближается к наиболее жестким естественным условиям.

Испытания при повышенной влажности проводили на приборе «Климатическая камера влажности». Относительная влажность была 90%, температура $(28\pm 2)^{\circ}\text{C}$, время выдержки – 5 суток.

Методы синтеза полимерных композиций

Синтез полимерных композиций на основе хитозана и поливинилпирролидона проводили следующим образом. В реакционный сосуд, представляющий собой трёхгорлую колбу, снабжённую гидравлическим затвором, мешалкой и обратным холодильником заливали 100 мл 2% раствора хитозана в 1% растворе уксусной кислоты и инициатор полимеризации динитрилазоизомасляной кислоты (ДАК). Перемешивали при комнатной температуре до полного растворения инициатора. Затем добавляли 50 мл 2,76% водного раствора ВПД и помещали в термостат при 70⁰С. Полимеризацию вели 7 часов. Выход привитого сополимера составил 98,2%.

Синтез привитых сополимеров акрилонитрила на хитозан

Раствор хитозана концентрации 2 масс% готовили растворением навески хитозана в 2% водном растворе уксусной кислоты при перемешивании в течение 20 часов при комнатной температуре. Привитую полимеризацию проводили с использованием 3% раствора хитозана с иницирующей системой комплексных соединений Co^{3+} и динитрила азоизомасляной кислоты (ДАК). Плёнки получали методом полива — раствор сополимера наносили на лавсановую подложку и сушили при комнатной температуре до полного визуального высыхания, а затем в условиях вакуума до постоянного веса.

Синтез блок-сополимеров хитозана с полиакриламидом

Готовили реакционную смесь – хитозан-полиакриламид в соотношении 2:1. Полученную смесь охлаждали на ледяной бане до температуры 0° С и подвергали ультразвуковой обработке в течение 15 минут для получения блок-сополимера из компонентов реакционной смеси. Затем получали пленки методом полива — раствор блок-сополимера наносили на лавсановую подложку и сушили при комнатной температуре до полного визуального

высыхания, а затем в условиях вакуума до постоянного веса. Синтез блок-сополимеров хитозана с крахмалом проводили по аналогичной методике.

Приготовление образцов бумаги

Высушенную измельчённую бумажную массу (отходы производства ЦБК) перетирали с водными растворами модификаторов (хитозан, метакрилат, сополимеры или их смеси). Из полученной массы изготавливали тонкие плёнки на лавсановой подложке, высушивали при $T = 60^{\circ} \text{C}$ (не более),

Получение сополимеров картофельного крахмала с метакрилатом

Синтез проводили в трёхгорлой колбе с обратным холодильником при непрерывном перемешивании. Стекланный реактор помещали в термостат с водой, в котором поддерживалась температура 50°C . Синтез проходил 4 часа. Инициатором являлся персульфат аммония в количестве $5 \div 10 \text{ мас}\%$ к массе полимера. По окончании процесса образовавшийся продукт высаживали метиловым и изопропиловым спиртами, затем сушили в вакуумном сушильном шкафу. Гомополимеры метакрилата экстрагировали ацетоном в аппарате Сокслета в течение 20-24 часов (Смирнова и др., 2001). Синтез привитых сополимеров Na-КМЦ-метакрилат проводили по аналогичной методике.

Методика синтеза блок-сополимеров натрий-карбоксиметилцеллюлозы с метакрилатом

Блок сополимеры Na-КМЦ—МА получали методом ультразвуковой деструкции на ультразвуковой установке УЗДН-1 на частоте 22 кГц и 0,5 мА. Ультразвуковые колебания вводили в среду с помощью конического концентратора с разветвлённой рабочей частью $d = 15 \text{ мм}$, помещённого непосредственно в облучаемый раствор.

Привитые сополимеры хитозана с метилакрилатом (МА) получали в водноуксуснокислых растворах полисахарида 3 мас. % с концентрацией

уксусной кислоты 6 мас. % с использованием в качестве инициатора 2,2'-азо-бис-изобутиронитрила (ДАК) при 333-353 К в течение 4 ч. Навеску ДАК (0,01 моль/л) предварительно растворяли в объеме мономера, после чего смешивали с раствором полисахарида: соотношение $[MA]/[\text{звено глюкозамина}]$ составило 1.78 моль/осново-моль.

Блок-сополимеры хитозана с МА получали в водноуксуснокислых растворах полисахарида 3 мас. % с концентрацией уксусной кислоты 6 мас. % при 291-296 К в течение 24 ч. При перемешивании в раствор хитозана последовательно добавляли МА (соотношение $[MA]/[\text{звено глюкозамина}]=2.38$ в моль/осново-моль), аскорбиновую кислоту ($v(C_6H_8O_6)/v(H_2O_2)=1$ в моль) и H_2O_2 ($v(\text{звенья глюкозамина})/v(H_2O_2)=75$ в осново-моль/моль).

Привитые сополимеры хитозана с акриламидом (АА) синтезировали в 0.4%-ном водном растворе CH_3COOH , содержащем 1% хитозана и 9.5 моль АА на моль звеньев глюкозамина. В реактор помещали необходимое количество раствора хитозана и затем добавляли АА. Систему перемешивали до полного растворения АА, продували аргоном в течение 20 мин, температуру реактора поднимали до 328 К и затем вводили в реакционную смесь инициатор $(NH_4)_2S_2O_8$ ($0.5 \cdot 10^{-3}$ М), растворенный в воде. Процесс ввели в течение 3 ч.

Привитые сополимеры хитозана с акрилонитрилом (АН) синтезировали в 6%-ном водном растворе CH_3COOH , содержащем 3% хитозана и 3 моль АН на моль звеньев глюкозамина. В реактор помещали необходимое количество раствора хитозана и затем добавляли АН. Систему перемешивали до полного растворения АН, температуру реактора поднимали до 333 К и затем вводили в реакционную смесь инициатор ДАК (0.01 моль/л), растворенный в диметилформамиде (0.2 моль/л). Процесс ввели в течение 4 ч.

Пленки на основе блок- и привитых сополимеров хитозана с виниловыми мономерами готовили методом полива из реакционных смесей на лавсановую подложку (Серенсон, Кемпбел, 1963).

С целью перевода солевой формы хитозана в напротонированную, пленки образцов обрабатывали 5% раствором NaOH (в течении 5 мин), с последующей промывкой дистиллированной водой до pH 7.

Композиции на основе микросуспензионного поливинилхлорида (ПВХ) готовили по технологии приготовления пластизоль (Зильберман, 1968). Компоненты композиции (мас. частей к массе ПВХ) тщательно перетирали в фарфоровой ступке до получения однородной пасты. Шпателем переносили в формы из тефлона и термостатировали их при 423-433 К в течение часа.

Образцы в виде пленок на основе смеси ПВС и крахмала (массовое соотношение [ПВС]/[крахмал] = 4) готовили методом полива из водного раствора.

Изучение механических свойств полимеров проводили на разрывных машинах Tinius Olcen, Instron-1122, МР-05 (Малкин и др., 1978). Определяли величину разрушающего напряжения (σ):

$$\sigma = \frac{P}{S} \left(\frac{H}{\text{см}^2} \right),$$

где P – сила разрыва; S – площадь поперечного сечения

Измерение проводилось как до воздействия грибов, так и после 28–30 дневного выдерживания образцов в чашках Петри на поверхности газона грибов при относительной влажности воздуха 98% и температуре 28° С.

Механическую прочность пленок на основе привитых и блок-сополимеров ХТЗ с МА (в виде полос длиной 5 см и шириной 1 см.) определяли на разрывной машине ZWIC Z005 (ГОСТ 270-64) при скорости растяжения 50 мм/мин. Толщину пленок измеряли микрометром.

Разрывную прочность (σ) и относительное удлинение (ε) полученных полимерных пленок рассчитывали по формулам:

$$\sigma = \frac{P}{S},$$

где σ - разрывная прочность, Н/м²; P – приложенная нагрузка, Н; S – площадь поперечного сечения пленки, м²:

$$\varepsilon = \frac{l_1 - l_0}{l_0} \times 100,$$

где ε – относительное удлинение, %; l_0 – исходная длина образца, см; l_1 – длина образца, предшествующая разрыву, см.

Методика культивирования грибов

Культуру гриба выращивали на среде следующего состава: NaNO₃–2,0 г; KCl–0,5 г; MgSO₄–0,5 г; KH₂PO₄–0,7 г; K₂HPO₄–0,3 г; FeSO₄–0,01 г; сахара–30 г; H₂O–1 л.

В автоклаве проводили стерилизацию питательной среды без сахарозы 1 час при 1 атм., затем добавляли сахарозу и стерилизовали 30 минут при 0,5 атм. После того как среда остывала проводили её разлив и посев грибов, предварительно выращенных на твёрдой питательной среде Чапека – Докса. Посев осуществлялся смывом спор с косяков.

Инкубацию проводили в колбах Эрленмейера (V=500 мл) на качалках марки АБУ-6с, при скорости вращения 150-200 об/мин. Культивирование проводили при температуре 28±2° С. Время культивирования варьировали от 4 до 14 суток, в зависимости от цели опыта.

Во время культивирования в опытные образцы вносили навески соответствующих полимерных композиций. После чего в культуральной среде определялась активность соответствующих экзоферментов. Растет удельной активности ферментов осуществлялся на мг. белка. Контролем

служили варианты без добавления в состав питательной среды полимерных композиций.

Методика выращивания плесневых грибов для определения степени
деструкции хитина и хитозана

Суспензия спор, полученная смывами с косяков плесневых грибов, выращенных на твёрдой питательной среде Чапека – Докса или грибной мицелий, выращенный 7 суток на жидкой питательной среде Чапека – Докса (в зависимости от задач эксперимента) высеваются на жидкую питательную среду не содержащую сахарозы с добавлением твёрдого хитина (20 г. хитина на 1 литр среды). Инкубацию проводят от 60 до 80 суток на качалке со скоростью 150 об\мин, при $T = 23 \pm 3^\circ \text{C}$ в колбах Эрленмейера. На протяжении всего времени инкубации из колб отбирается культуральная жидкость, которая используется для определения в ней количества редуцирующих сахаров.

Методика определения редуцирующих сахаров в культуральной жидкости
модифицированным методом Покровского и Крайко

Метод основан на том, что редуцирующие вещества образуют с пикриновой кислотой комплексное соединение, окрашенное в красный цвет. Одновременно пикриновая кислота осаждает белки (Куманова, Ивченко, 1974).

К 2 мл. культуральной жидкости выращиваемого плесневого гриба добавляют 1мл. буфера (натрий-фосфатный буфер $\text{pH} = 6,5$). Затем к 3 мл. образовавшейся инкубационной смеси добавляют 5 капель насыщенного раствора пикриновой кислоты, перемешивают и добавляют 5 капель 10 % раствора едкого натра (NaOH) и помещают в кипящую водяную баню на 3 минуты — в инкубационной смеси развивается окраска и выпадает осадок, который отфильтровывают через складчатый обеззоленный фильтр «синяя лента». Полученный фильтрат охлаждают и калориметрируют на ФЭКе с зелёным светофильтром (длина волны = 540 ± 10 н.м.). Количество

редуцирующих сахаров рассчитывается по калибровочной кривой, построенной по стандартным растворам глюкозы. По изменению количества редуцирующих сахаров мы косвенно судили о хитиназной и хитозаназной активности грибов.

Методика выращивания плесневых грибов для определения молекулярной массы хитозана

Культуры плесневых грибов выращивали на жидкой питательной среде Чапека – Докса, обеднённой по сахарозе (1г. сахарозы на 1 литр среды). Инкубацию проводили 1 сутки при $T = 23 \pm 3^\circ \text{C}$ на качалке со скоростью 150 об/мин в колбах Эрленмейера. Затем отбирали по 30 мл. питательной среды вместе с грибным мицелием, прибавляли к ней по 150 мл. раствора 3% хитозана в 2,5% янтарной кислоте, полученные растворы выдерживали на качалке 2, 5, 7 и 10 суток. Затем мицелий грибов отфильтровывался, pH отфильтрованного раствора доводили до 8-10 % NaOH, в результате чего хитозан выпадал в осадок. Хитозан отфильтровывали, промывали дистиллированной водой до pH = 7. Сухую массу хитозана получали лиофильной сушкой. Полученная масса использовалась для вискозиметрического определения молекулярной массы хитозана.

Молекулярную массу полимеров определяли вискозиметрически по характеристической вязкости раствора, используя в качестве растворителя 0,3 М NaCl и 0,33 М CH_3COOH . Вязкость измеряли в вискозиметре Уббелодде при температуре 21°C . Молекулярную массу рассчитывали по уравнению:

$$[\eta] = 3,41 \cdot 10^{-3} \cdot M^{1,02},$$

где M – средневязкостная молекулярная масса, $[\eta]$ - характеристическая вязкость (Gamzazade et al., 1985; Твердохлебова, 1987).

Методика культивирования микромицетов для биохимического анализа при воздействии физических факторов

Приготавливали два варианта (контроль и опыт) суспензий спор микромицетов с равным количеством грибковых тел. Во всех контрольных вариантах проводилась имитация облучения контактом с неработающими излучателями, в опытных вариантах осуществляли воздействие факторами в различных дозах. Затем контрольными и опытными суспензиями в объеме 2 мл инокулировались колбы, содержащие по 100 мл жидкой полной питательной среды.

Определение активности хитозаназы

Наличие в культурах хитинолитических ферментов определяют по их способности осахаривать хитин/хитозан (разлагать молекулы хитина/хитозана до редуцирующих сахаров).

Опыт: 1 мл. коллоидного хитина/ХТЗ + 1 мл. натрий-фосфатного буфера pH 6,5 + 2 мл. КЖ.

Контроль: КЖ дезактивируют кипячением 10 мин.

Пробирки закрывают резиновыми пробками и помещают в термостат на 1 ч. при 37°C. Реакцию останавливают кипячением образца и контроля 5 мин. на кипящей водяной бане. Затем определяют содержание редуцирующих сахаров в реакционной смеси. Редуцирующие сахара, образовавшиеся в ходе разложения хитина/ХТЗ, определяют калориметрическим методом. Метод основан на том, что глюкоза образует с 3,5-динитросалициловой кислотой соединение, окрашенное в красный цвет (Miller, 1959).

К инкубационной смеси добавляют 0,5 мл. 3,5-ДНСК (1% раствор в 0,7 Н NaOH) и помещают в кипящую водяную баню на 5 мин. – в инкубационной смеси развивается окраска и выпадает осадок, который отфильтровывают через складчатый фильтр «синяя лента». Полученный фильтрат охлаждают и калориметрируют на ФЭКе с зелёным светофильтром

(длина волны 540 ± 10 н.м.). Содержание редуцирующих сахаров определяют по калибровочной кривой.

Для построения кривой используют исходный раствор глюкозы с концентрацией 200 мг%. Различные концентрации получают разведением исходного раствора.

Расчёт активности фермента ведут по формуле:

$$\text{Активность хитиназы} = \frac{\Delta C\langle\text{глюкозы}\rangle}{C\langle\text{белка}\rangle \times T} \left(\frac{\text{мг}_{\text{глюкозы}}}{\text{мг}_{\text{белка}} \times \text{час}} \right),$$

где: $\Delta C\langle\text{глюкозы}\rangle = C_{\text{опыт}}\langle\text{глюкозы}\rangle - C_{\text{контроль}}\langle\text{глюкозы}\rangle$

$\Delta C\langle\text{глюкозы}\rangle$ — концентрация глюкозы

$C\langle\text{белка}\rangle$ — концентрация общего белка

T — время инкубации

Методика определения активности амилаз в культуральной жидкости плесневого гриба модифицированным методом Кочетова (1980)

Метод основан на учёте количества расщеплённого под действием фермента крахмала.

Ход работы: готовится раствор субстрата — 1 г. крахмала растворяют в 30 мл. ацетатного буфера (рН=4,8), приливают к 50 мл. кипящего буферного раствора, доводят до кипения и после охлаждения доводят объём до 100 мл. ацетатным буфером. В пробирки приливают по 5 мл. раствора субстрата и помещают их в термостат при 37° С. Через 10 минут в пробирки добавляют по 5 мл. культуральной жидкости, нагретой до той же температуры. Содержимое пробирок быстро перемешивают и отмечают время начала инкубации. Через 20 минут реакцию прекращают приливанием 2 мл. 1Н НСl при помешивании. Затем по 0,5 мл. раствора из каждой пробирки переносят в мерные колбы на 50 мл., добавляют 0,5 мл. 1Н НСl, 0,5 мл. йодного реактива и объём доводят до метки дистиллированной водой. Оптическую плотность растворов измеряют на ФЭКе с красным светофильтром против

дистиллированной воды. Количество гидролизованного крахмала (мг/мин) определяют по формуле:

$$\frac{(A - B) \times C}{A \times 20 \times 5}, \text{ где:}$$

A – оптическая плотность контрольного раствора,

B – оптическая плотность исследуемого раствора,

C – количество крахмала в мг., взятое в анализ (50 мг.),

20 – время инкубации, мин.

При оценке α-амилазной активности культуральную жидкость прогревали в течение 15 минут при 70° С, при этом β-амилаза как более термолабильный фермент денатурировала, а α-амилаза сохраняла свою активность.

Инактивация α-амилазы достигалась добавлением в надосадочную жидкость оксалата аммония (до конечной концентрации 0,1 Н), что приводило к удалению Ca^{2+} , входящего в состав α-амилазы.

При оценке γ-амилазной активности проводилась инактивация как α-, так и β-амилазы.

Определение эстеразной активности проводилось методом Рубан-Ксандопуло. Определение велось титрометрическим методом, основанном на учёте свободных органических кислот, образовавшихся в результате гидролиза сложных эфиров (Рубан и др., 1976), и выражающихся в миллилитрах 0,1 Н NaOH, пошедшей на титрование (т.е. в условных единицах).

Ход работы: оливковое масло и поливиниловый спирт в соотношении 1:3 эмульгируют 5 минут. Затем берут 2,5 мл. реакционной смеси, 2 мл. фосфатно-цитратного буфера и 0,5 мл. культуральной жидкости. Ставят в термостат при температуре 37° С на 1 ч. Реакцию прерывают 7,5 мл. этилового спирта и титруют пробу 0,1 Н NaOH в присутствии 1% раствора фенолфталеина до появления исчезающей розовой окраски.

Расчёт ферментативной активности ведут по формуле:

$$\frac{(A_1 - A_2) \times B \times K}{T \times v \times H},$$

где: A_1 – количество мл. 0,1 Н NaOH, пошедшего на титрование опытной пробы,

A_2 – количество мл. 0,1 Н NaOH, пошедшего на титрование контрольной пробы,

B – общий объём реакционной смеси,

K – поправка к титру щёлочи: $K = \frac{V_{\kappa}}{V_{\text{и}}}$, берётся заданный объём кислоты и

титруется 0,1 Н NaOH — количество пошедшее на титрование – $V_{\text{щ}}$ – его надо подставить в формулу и рассчитать по ней K ,

T – время инкубации в термостате (1 час)

H – ферментативный препарат в мг. (3 мг в 1 мл.)

v – объём ферментативного препарата в реакционной смеси (1 мл.)

Определение активности каталазы проводили спектрофотометрически (СФ-2000) (Patterson et al., 1984). В качестве субстрата использовали 30мМ пероксид водорода. Измерения проводили при $\lambda_{\text{max}} = 240$ нм.

В кювету спекрофотометра толщиной 1см помещали: 1 мл буферного раствора рН=7,8; 1 мл ферментативного препарата (КЖ); 1 мл 30мМ H_2O_2 . Измерения проводили в течение одной минуты. В контрольной кювете H_2O_2 заменяли водой.

Активность каталазы рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{D \times \alpha \times \beta \times \chi}{t \times d}, \text{ где}$$

A -активность фермента, D - приращение оптической плотности, d - толщина слоя жидкости в кювете, см. (равна 1); t - время, мин.; $\alpha \times \beta \times \chi$ - факторы разведения (равны 1).

Результаты измерений выражали в условных единицах (у.е.). За единицу активности принимали убыль оптической плотности в 1 мл реакционной смеси за 1 час, в пересчете на 1 мг вносимого белка.

Определение активности пероксидазы проводили спектрофотометрически по модифицированному методу Aurand'a (Aurand et al., 1956). В качестве субстрата использовали 0,03% пероксид водорода и 0,1 М парафенилендиамин. Измерения проводили при $\lambda_{\max} = 535\text{нм}$.

В кювету спектрофотометра толщиной 1 см помещали: 1,5 мл буферного раствора pH=7,2; 0,5 мл ферментативного препарата (КЖ); 0,5 мл 0,1М раствора парафенилендиамина; 0,5мл 0,03% H_2O_2 . Измерения проводили в течение одной минуты. В контрольной кювете H_2O_2 заменяли водой.

Активность пероксидазы рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{D \times \alpha \times \beta \times \chi}{t \times d}, \text{ где}$$

A - активность фермента, D - приращение оптической плотности, d - толщина слоя жидкости в кювете, см. (равна 1); t - время, мин.; $\alpha \times \beta \times \chi$ - факторы разведения (равны 1).

Результаты измерений выражали в условных единицах (у.е.). За единицу активности принимали приращение оптической плотности в 1 мл реакционной смеси за 1 час, в пересчете на 1 мг вносимого белка.

Определение белка в культуральной жидкости мицелиальных грибов проводили по методу Лоури (Lowry et al., 1951).

Все измерения проводились в нормальных лабораторных условиях: температура окружающего воздуха: $20 \pm 5^\circ\text{C}$; атмосферное давление: 84–106 кПа; относительная влажность: $80 \pm 5\%$; частота переменного тока: 50 ± 1 Гц; напряжение в электрической сети: 220 ± 10 В.

Достоверность и обоснованность полученных результатов:

Использованные методы адекватны цели и задачам исследования, являются современными, апробированными и на их основе авторским коллективом уже получены опубликованные в рецензируемых журналах результаты.

Полученные экспериментальные данные и разработанные на их основе концепции, закономерности, выводы имеют ясную физическую трактовку и непротиворечивость известным (опубликованным) данным

Оценка достоверности различий изучаемых показателей проводилась с использованием парного Т-критерия Стьюдента при уровне значимости $P < 0,05$ ($n = 3$; $t = 4,303$).

Опыты проводили как минимум в трёх биологических повторностях. Полученные данные статистически обработаны с помощью компьютерной программы Statistica 6.0 (Боровиков, 2001) и представлены в виде средних арифметических значений и их среднеквадратичных отклонений ($M \pm m$).

Полученные в экспериментах, изучающих влияние микроскопических грибов-деструкторов на физико-механические характеристики полимерных пленок данные обрабатывались статистически методом непараметрического критерия Манна – Вилконсона – Уитни, ввиду того, что они не подчинялись нормальному распределению (Гублер, Генкин, 1973).

2.2. Стратегия и теоретическое обоснование методологии проведения диссертационного исследования

На рисунке 2.1 представлена классическая схема оценки устойчивости промышленных материалов к биоповреждениям. Данная схема возникла на основе эколого-технологической концепции биоповреждений.

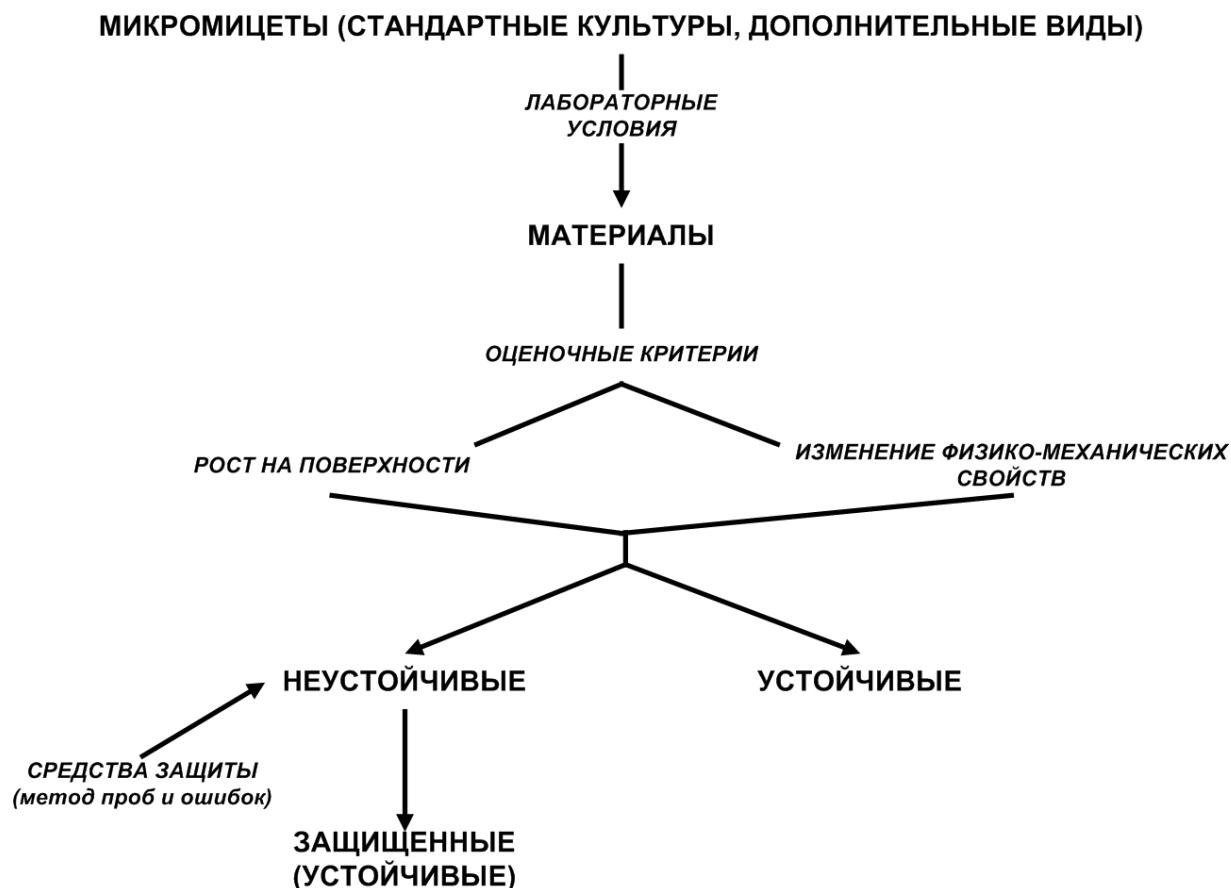


Рис. 2.1. Классическая схема оценки устойчивости промышленных материалов к биоповреждениям (Onions et al., 1981).

В рамках вышеприведенной классической схемы отражаются отношения между участниками биоповреждающей ситуации, которые могут быть представлены в виде т.н. «триады биоповреждающего процесса» (рис. 2.2).

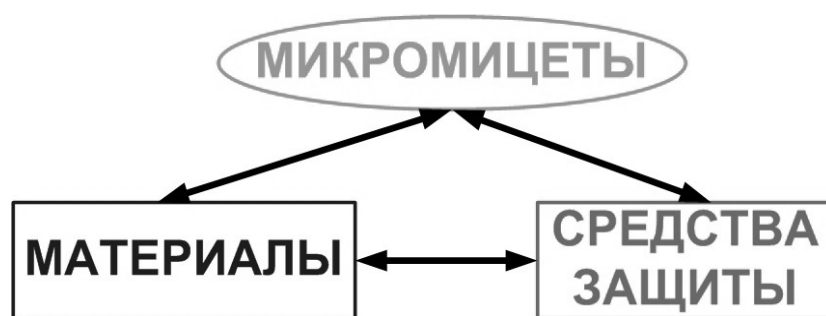


Рис. 2.2. «Триада биоповреждающего процесса».

Основные положения эколого-технологической концепции проверены и не вызывают сомнений, но постоянно корректируются. На сегодня имеется следующая измененная и дополненная схема, отличающаяся от классической введением в систему оценки физиолого-биохимической компоненты и позволяющая регулировать процессы биодegradации (рис. 2.3).

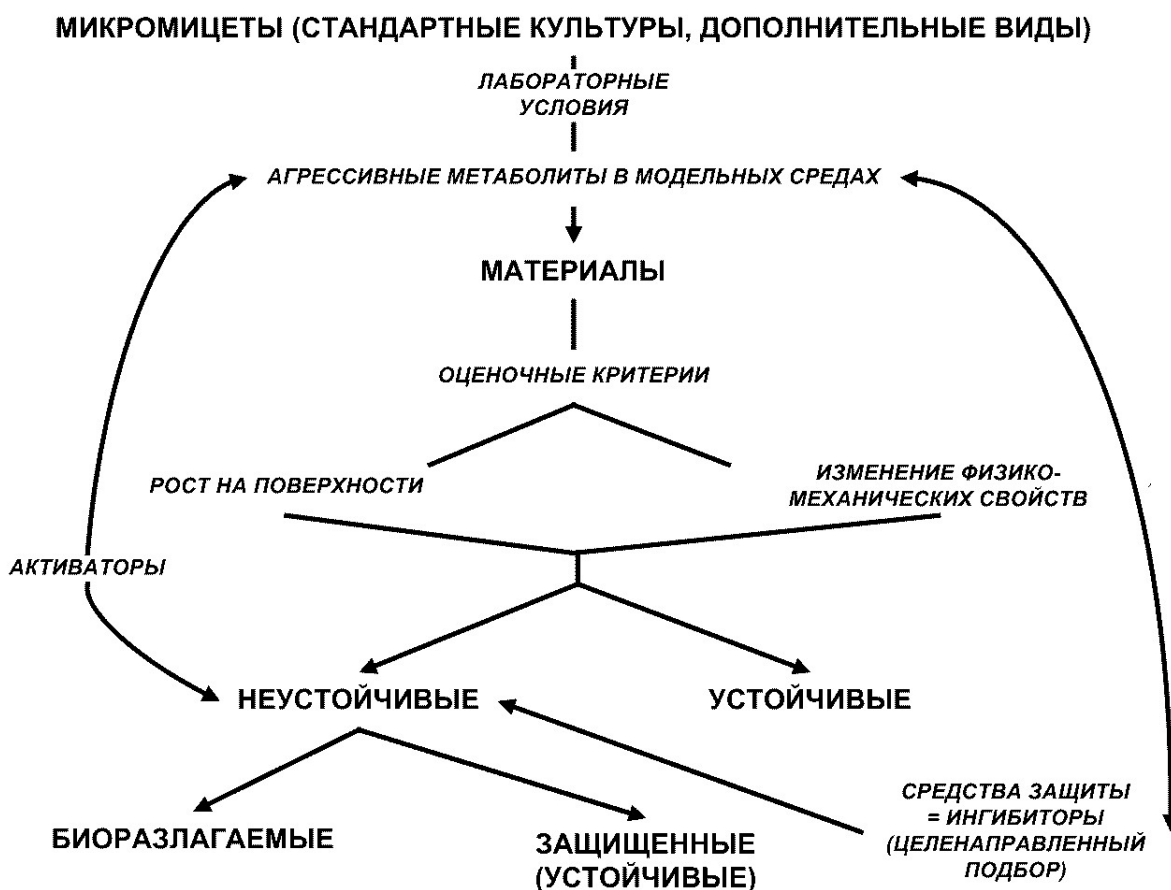


Рис. 2.3. Измененная и дополненная схема оценки устойчивости промышленных материалов к биоповреждениям.

В рамках данной схемы нами проводились все собственные исследования.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Устойчивость к действию микромицетов полимерных композиций на основе природных и синтетических полимеров

3.1.1. Изучение способности служить источником питания для микромицетов у ряда синтетических полимерных материалов

Нами было проведено исследование на наличие грибостойких и фунгицидных свойств у ряда клеев, герметиков и пластиков, широко используемых в современной радиотехнической промышленности (фунгицидность полимерной композиции – это способность данного материала за счёт введения в его состав определённого биоцида вызывать гибель грибов-деструкторов; грибостойкость полимерной композиции – это способность не утилизироваться (не служить источником питания) грибами-деструкторами, т.е. быть биостойкой, не подвергаться биоповреждениям).

Оценка грибостойкости полимерных материалов производилась в соответствии с ГОСТ 9.049–91 (пластмассы, пластики, компаунды, резины, клеи, герметики). Испытания материалов и их отдельных компонентов проводились как по стандартной методике (к ассоциативной культуре микромицетов), так и модифицированным методом (к отдельным видам грибов).

Результаты данного исследования представлены в таблице 3.1.

У испытанных нами на наличие грибостойких свойств полимерных материалов наблюдалась следующая картина: при испытании стандартным методом неудовлетворительную оценку грибостойкости равную 3 баллам получили только пластик АБС-2020-31 и полистирол УПС-825Д, грибостойкость всех остальных материалов оценивалась в 0 баллов, – за исключением клея-мастики ГИПК-23-12 получившего оценку 2 балла также являющуюся удовлетворительной. При испытании модифицированным методом нами были выделены три материала, являющиеся грибостойкими – клей-мастика ГИПК-23-12, компаунд ЭЗК-6, СТЭФ-1 – оценка устойчивости

данных материалов по отношению ко всем тест-культурам не превышала 1–2 баллов. Клей «Лейконат» и герметик УТ-34 также характеризуются достаточно высокой устойчивостью к действию грибов-деструкторов (в особенности герметик УТ-34), однако по отношению к грибу *Aspergillus terreus* их грибостойкость оценивалась в 3 балла. Пластик АБС-2020-31 и полистирол УПС-825Д являются негрибостойкими – по отношению ко всем девяти тест-культурам, а также к ассоциативной культуре они получили оценку 3 балла.

Грибостойкость пластиков, клеев и герметиков

(к ассоциативной культуре и отдельным видам грибов) по ГОСТ 9.049-75 (91)

Вид гриба	Степень обрастания в баллах						
	Клей «Лейконат»	Клей-мастика ГИПК-23-12	Компаунд ЭЗК-6	Герметик УТ-34	Пластик АБС-2020-31	Полистирол УПС-825Д	СТЭФ-1
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	3	2	0	3	3	3	0
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	1	1	0	0	3	3	1
<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn.	0	1	0	0	3	3	0
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	2	1	1	0	3	3	0
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	2	1	0	0	3	3	1
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	2	0	0	0	3	3	0
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	2	2	0	0	3	3	0
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	1	0	0	0	3	3	1
<i>Trichoderma viride</i> Persoon	2	2	0	0	3	3	2
ассоциативная культура	0	2	0	0	3	3	0

Нам бы хотелось выявить причины грибостойкости (негрибостойкости) тех или иных материалов исходя из их состава. Мы не проводили специальных исследований (за исключением полимерных композиций, содержащих природные полимеры) по оценке грибостойкости ингредиентов данных полимеров, однако, основываясь на результатах полученных ранее в отделе биологических исследований НИИ Химии ННГУ, а также на литературных данных: (ГОСТ 9.048–75 — ГОСТ 9.053–75; Бочаров и др., 1986; Соломатов и др., 2001) мы провели данную работу. Результаты представлены в таблице 3.2.

Как видно из данной таблицы грибостойкость материалов зависит от их состава. Достаточно высокая грибостойкость клея «Лейконат» объясняется наличием в его составе трифенилметантриизоцианата, обладающего фунгицидными свойствами. В состав клея-мастики ГИПК-23-12 входят неустойчивые к действию грибов-деструкторов бутилакрилатный и эпоксиуретановый каучуки, поэтому его высокую грибостойкость можно объяснить наличием в его составе клея «Лейконат», содержащего вышеуказанное фунгицидное соединение. Высокая грибостойкость компаунда ЭЗК-6 и герметика УТ-34 обусловлена наличием в их составах фунгицидных компонентов: смолы ЭД-20 и олигоэфиракрилата МГФ-9 у компаунда ЭЗК-6, и тиокола и дифенилгуанидина у герметика УТ-34. Низкая грибостойкость пластика АБС-2020-31 и полистирола УПС-825Д объясняется наличием в их составах неустойчивых к действию грибов-деструкторов бутадиенстирола, стирола и каучука, грибостойкость которых оценивается в 4 и 5 баллов. Устойчивость к действию микроскопических грибов стеклотекстолита СТЭФ-1 можно объяснить тем, что все входящие в его состав компоненты имеют оценку грибостойкости не выше 2 баллов.

Таблица 3.2

Данные по грибостойкости отдельных компонентов ряда синтетических полимеров

Название материала	Компоненты материала	Грибостойкость компонентов в баллах
Клей «Лейконат»	трифенилметантриизоцианат	0
	дихлорэтан	2
Клей-мастика ГИПК-23-12	бутилакрилатный и эпоксиуретановый каучуки	5
	диоксид титана	1
	«Лейконат»	0
Компаунд ЭЗК-6	смола ЭД-20	0
	олигоэфиракрилат МГФ-9	0
	полиэтиленполиамины	0
	кварц	0
Герметик УТ-34	тиокол	0
	диоксид марганца	0
	дифенилгуанидин	0
Пластик АБС-2020-31	акрилонитрил	0
	бутадиенстирол	4
Полистирол УПС-825Д	стирол	4
	каучук	5
СТЭФ-1	стекловолокно	2
	эпоксидная смола	2
	фенолформальдегидная смола	2

Нами, также как и в работе Анисимова и Смирнова (1980), показано, что оценивать устойчивость полимерных композиций к действию грибов исходя только из состава ингредиентов не всегда удаётся. Поэтому любая полимерная композиция должна подвергаться исследованию на устойчивость к действию микромицетов — это связано с тем, что в конечном итоге грибостойкость (негрибостойкость) полимера определяется спецификой взаимодействий всех компонентов композиции.

3.1.2. Оценка устойчивости полимерных композиций, содержащих хитозан, к деструктивному воздействию микроскопических грибов

Хитозан может использоваться при создании различных сополимерных композиций, для придания им специфических свойств. Регулирование биостойкости данных композиций возможно за счет активации или ингибирования ферментных систем микроорганизмов, способных деструктировать хитозан и синтетические полимеры, входящие в состав многокомпонентных материалов. Одной из важнейших задач в плане решения вопроса биоутилизации материалов является подбор эффективных штаммов микроорганизмов-деструкторов. На первом этапе работы мы пытались отыскать активных грибов-деструкторов хитозана, а также полимерных материалов на его основе, среди штаммов микромицетов, используемых в различных ГОСТах. В качестве тест-организмов использовались штаммы 17 видов микроскопических грибов, известные как активные деструкторы различных материалов. Оценка грибостойкости велась по шестибальной шкале (0–5 баллов). Материал считается грибостойким, если он получает оценку по данному методу 0–2 балла. Результаты представлены в таблице 3.3.

Анализ данных показал, что наиболее устойчивыми к действию микроскопических грибов являются порошок хитозана и поливинилпирролидона (ПВПД) – грибостойкость данных материалов никогда не превышала 3 баллов (невооруженным глазом рост грибов едва заметен, но отчетливо виден под микроскопом). Гомополимерные пленки хитозана полученные поливом в CH_3COOH и HCl достаточно хорошо разрушались плесневыми грибами. Грибостойкость данных плёнок составила 4 балла (рост грибов отчетливо виден невооруженным глазом и покрывает менее 25% поверхности образца). Гетерополимерные композиции на основе механических смесей ХТЗ+ПВПД и ХТЗ+ПВС являлись также негрибостойкими, особенно это относится к композиции ХТЗ+ПВС, где грибостойкость для некоторых культур равнялась 4 баллам. Оценка

грибостойкости поливинилового спирта (ПВС) в данном эксперименте нами не проводилась, так как ранее проведенные нами эксперименты показывают, что данное соединение является негрибостойким по отношению к большинству ГОСТовских грибов и имеет оценку грибостойкости 4 балла.

Активными деструкторами гомополимерных плёнок (рост грибов хорошо виден невооруженным глазом, отмечается спороношение) являются грибы *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium ochro-chloron*, *Penicillium funiculosum*. Наиболее активными деструкторами гетерополимерных плёнок являются: *Aspergillus niger* и *Trichoderma viride*. Необходимо отметить, что указанные выше штаммы микромицетов способны интенсивно утилизировать большинство природных материалов.

Таблица 3.3

Грибостойкость полимерных композиций на основе хитозана

Вид гриба	Степень обрастания в баллах					
	ХТЗ в CH ₃ COOH	ХТЗ в HCl	ХТЗ + ПВС	ХТЗ + ПВПД	ПВПД	ХТЗ
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	4	4	3	1	3	3
<i>Aspergillus amstelodami</i> (Mangin) Thom et Church	1	3	3	3	0	3
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	3	4	4	4	2	3
<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn.	2	3	4	2	2	3
<i>Aureobasidium pullulans</i> (Bubak) W. B. Cooke	0	0	2	2	3	2
<i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler	2	0	0	0	3	3
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	2	3	2	2	1	3
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon	0	0	1	1	1	3
<i>Penicillium ochro-chloron</i> Biourge	4	4	4	2	0	3
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	0	0	0	0	0	3
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	0	1	0	0	0	3
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	4	3	4	3	1	3
<i>Penicillium brevi-compactum</i> Dierckx	0	0	3	1	0	2
<i>Penicillium martensii</i> Biourge	3	3	4	3	1	3
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	3	1	4	3	2	2
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Saccardo) Bainier	3	3	4	3	1	3
<i>Trichoderma viride</i> Persoon	0	2	4	4	2	3

Следует отметить, что для решения вопросов, связанных с проблемой биоутилизации грибами хитозана степень использования материалов в качестве питательного субстрата оцененная в 4 балла является недостаточной. В связи с этим нами был осуществлен поиск природных штаммов микромицетов – активных деструкторов хитозана.

Из воздуха нами были выделены «дикие» штаммы микромицетов, относящиеся к классу *Hyphomycetes*, порядку *Moniliales*, семейству *Moniliaceae*, идентифицированные как *Raecilomyces sp. HY-10* и *Penicillium sp. HY-12*, вызывающие деструкцию хитозана.

Для штамма *Raecilomyces sp. HY-10* характерным является довольно медленный рост на агаризованном сусле, на 10-й день диаметр колоний достигает 10-18 мм. Вначале колонии белые, однако, быстро приобретают серо-розовую окраску, иногда с зеленым оттенком с обратной стороны. Состоят из базального войлока и хлопьевидного опушенного верхнего слоя, обычно интенсивно спорулируют, создается вид, что колония мучнистая. Конидиеносцы прямые, поднимающиеся от краев гиф 100÷150 x 1,5÷2,5 мкм. Конидии в цепочках, одноклеточные, эллиптические, не окрашенные в зеленые оттенки.

Для второго штамма *Penicillium sp. HY-12* характерен довольно быстрый рост колоний на среде Чапека, на 10-й день роста, достигая 4–4,5 см в диаметре. Колонии радиально-бороздчатые, часто с зернистой поверхностью, обильно спороносящие, молодые – сизо-голубоватые до голубовато-серо-зеленых, при старении обычно тускло-серые. Обратная сторона вначале светлоокрашенная, при старении отчасти становится пурпурных оттенков. Конидиеносцы отходят от субстрата 200÷400 x 3÷3,5 мкм.

Данные «дикие» штаммы, наряду с ГОСТовскими штаммами *Aspergillus niger* и *Trichoderma viride* (активными деструкторами гетерополимерных пленок на основе хитозана), использовались для определения грибостойкости порошка хитозана и ХТЗ-ПВПД-плёнок, полученных методом привитой сополимеризации и механического

смешивания этих двух полимеров в равном мольном соотношении. Результаты представлены в таблице 3.4.

Таблица 3.4

Грибостойкость хитозана и гетерополимерных материалов на его основе

Вид гриба	Степень обрастания в баллах		
	ХТЗ	ХТЗ + ПВПД (механическое взаимодействие)	ХТЗ + ПВПД (привитая сополимеризация)
<i>Aspergillus niger van Tieghem</i>	3	4	1
<i>Trichoderma viride Persoon</i>	3	4	2
<i>Paecilomyces sp. НУ-10</i>	5	5	3
<i>Penicillium sp. НУ-12</i>	5	5	2

«Дикие» штаммы *Paecilomyces sp. НУ-10* и *Penicillium sp. НУ-12* значительно превосходили по своему влиянию на степень деградации хитозана и полимеров на его основе вышеуказанные культуры из списков ГОСТа 9.049-91. Данные виды на наш взгляд можно рекомендовать для дополнения ГОСТа по методам испытаний на грибостойкость данных соединений и их производных.

Основным путём создания биоразлагаемых полимеров является синтез материалов из природного и синтетического компонентов. В связи с чем представляло интерес исследование грибостойких свойств сополимеров хитозана с такими широко распространёнными синтетическими материалами как акрилонитрил и полиакриламид. На первом этапе данного исследования нами были синтезированы привитые сополимеры акрилонитрила (АН) на хитозан с использованием двух иницирующих систем: аммиачного комплекса кобальта ($[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$) и динитрила азоизомасляной кислоты (ДАК) при различных температурах. Полимерные композиции были испытаны на грибостойкость. В качестве контроля проводились аналогичные

испытания для полиакрилонитрила (ПАН) в чистом виде. Результаты представлены в таблице 3.5.

Результаты испытаний данных полимерных композиций показывают, что чистый полиакрилонитрил является грибостойким. Было показано, что увеличение доли акрилонитрила в полимере приводит к ухудшению его устойчивости по отношению к культурам *Fusarium moniliforme* и *Penicillium ochro-chloron*, что позволяет сделать предположение о том, что в данном случае имеет место процесс ко-метаболизма, т.е., согласно общепринятой схеме, вначале грибом утилизируется только один компонент полимерной композиции – хитозан, который является ростовым субстратом, что в дальнейшем способствует утилизации менее доступного полимера – акрилонитрила.

Использование при синтезе другой иницирующей системы (ДАК) также приводит к ухудшению грибостойкости материала. Данный полимер является неустойчивым по отношению к культурам: *Aspergillus terreus*, *Aspergillus amstelodami*, *Aspergillus oryzae*, *Aureobasidium pullulans*, *Alternaria alternata*, *Penicillium ochro-chloron*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium brevicompactum*, *Trichoderma viride* в сравнении с аналогичным полимером, синтезированным при той же температуре и с тем же количеством акрилонитрила, но с участием аммиачного комплекса кобальта.

Полученные результаты позволяют предположить наличие биоцидных свойств у соединений кобальта. Для проверки данного предположения нами были синтезированы две полимерные композиции с использованием в качестве иницирующих систем аммиачного ($[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$) и карбонатного ($\text{Co}[\text{Co}(\text{CO}_3)_6]$) комплексов кобальта. Результаты данного эксперимента представлены в таблице 3.6.

Таблица 3.5

Грибостойкость привитых сополимеров акрилонитрила на хитозан

Вид гриба	Степень обрастания в баллах						
	ХТЗ +Co ³⁺ + 7мл АН (5°C)	ХТЗ +Co ³⁺ + 7 мл АН (21°C)	ХТЗ +Co ³⁺ + 7 мл АН (50°C)	ХТЗ +Co ³⁺ + 7 мл АН (60°C)	ХТЗ +Co ³⁺ + 10 мл АН (21°C)	ХТЗ +ДАК + 7 мл АН (50°C)	ПАН
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	2	1	1	2	1	3	1
<i>Aspergillus amstelodami</i> (Mangin) Thom et Church	5	0	0	4	0	4	0
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	2	1	1	2	2	2	2
<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn.	5	1	2	4	1	4	2
<i>Aureobasidium pullulans</i> (Bubak) W. B. Cooke	0	0	0	0	0	3	0
<i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler	0	0	0	0	0	3	0
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	1	0	0	1	0	2	0
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon	2	2	0	1	5	2	0
<i>Penicillium ochro-chloron</i> Biourge	5	2	2	5	5	5	1
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	0	0	0	0	0	3	2
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	2	1	1	2	0	2	1
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	0	0	0	0	0	2	1
<i>Penicillium brevi-compactum</i> Dierckx	2	1	1	2	2	3	0
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	1	0	0	2	2	2	1
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Saccardo) Bainier	0	0	0	0	0	2	0
<i>Trichoderma viride</i> Persoon	3	1	2	2	1	3	1

Результаты показывают, что полимер, синтезированный с использованием карбонатного комплекса кобальта, характеризуется меньшей устойчивостью к культурам *Aspergillus amstelodami*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium ochro-chloron*, *Penicillium cyclopium*, что позволяет нам предположить, что биоцидной активностью в большей степени обладают аммиачные комплексы кобальта.

Для проверки этого предположения нами были проведены испытания на наличие фунгицидных свойств у 1% водных растворов данных комплексных соединений кобальта. Результаты испытаний представлены в таблице 3.7. Полученные результаты полностью подтверждают выдвинутое нами предположение — карбонатный комплекс кобальта характеризуется более низкими (за исключением действия на культуру *Aureobasidium pullulans*) фунгицидными свойствами, чем аммиачный комплекс.

Таким образом, с помощью хитозана и акрилонитрила, при использовании в синтезах определённых иницирующих систем, можно создавать устойчивые к действию микроскопических плесневых грибов полимерные композиции.

Таблица 3.6

Грибостойкость привитых сополимеров акрилонитрила на хитозан, синтезированных с аммиачным и карбонатным комплексами кобальта

Вид гриба	Степень обрастания в баллах	
	XTЗ + Ini [Co(NH ₃) ₆]Cl ₃ + 7 мл АН (50°C)	XTЗ + Ini Co[Co(CO ₃) ₆] + 7 мл АН (50°C)
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	1	1
<i>Aspergillus amstelodami</i> (Mangin) Thom et Church	0	3
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	1	4
<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn.	2	5
<i>Aureobasidium pullulans</i> (Bubak) W. B. Cooke	0	0
<i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler	0	2
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	0	0
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon	0	5
<i>Penicillium ochro-chloron</i> Biourge	2	4
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	0	3
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	1	2
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	0	0
<i>Penicillium brevi-compactum</i> Dierckx	1	1
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	0	0
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Saccardo) Bainier	0	2
<i>Trichoderma viride</i> Persoon	2	2

Фунгицидность аммиачного и карбонатного комплексов кобальта

Вид гриба	Зона отсутствия роста, мм	
	1% раствор [Co(NH ₃) ₆]Cl ₃ в H ₂ O	1% раствор Co[Co(CO ₃) ₆] в H ₂ O
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	17.5±2.0	нет зоны
<i>Aspergillus amstelodami</i> (Mangin) Thom et Church	6.0±0.5	нет зоны
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	10.2±2.5	нет зоны
<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn.	2.0±0.5	нет зоны
<i>Aureobasidium pullulans</i> (Bubak) W. B. Cooke	16.9±2.8	19.0±2.0
<i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler	9.0±0.8	4.5±0.8
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	11.8±1.1	нет зоны
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon	15.0±1.5	нет зоны
<i>Penicillium ochro-chloron</i> Biourge	12.0±1.5	6.0±1.5
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	15.0±0.6	11.5±1.5
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	13.0±1.5	нет зоны
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	17.0±1.5	нет зоны
<i>Penicillium brevi-</i> <i>compactum</i> Dierckx	6.0±0.8	нет зоны
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	27.0±2.5	27.0±2.5
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Saccardo) Bainier	12.3±0.4	11.0±0.8
<i>Trichoderma viride</i> Persoon	11.5±2.0	11.5±2.0

На следующем этапе исследования были синтезированы блок-сополимеры хитозана с полиакриламидом, а так же блок-сополимеры хитозана с крахмалом. Данные сополимеры были испытаны нами на грибостойкость. В качестве контроля испытывался чистый 2% полиакриламид (пАА). Результаты испытаний представлены в таблице 3.8.

Анализ результатов показывает, что чистый полиакриламид является достаточно устойчивым к действию микроскопических грибов и способен использоваться рядом грибов в качестве источника питания в незначительной степени (*Aspergillus amstelodami*, *Aspergillus oryzae*, *Penicillium cyclopium*, *Paecilomyces variotii*, *Trichoderma viride*). Блок-сополимеры хитозана с крахмалом являются негрибостойкими и характеризуются устойчивостью только по отношению к культурам *Chaetomium globosum* и *Penicillium brevi-compactum*. Блок-сополимер хитозана с полиакриламидом характеризуется определённой степенью устойчивости к действию плесневых грибов, однако по отношению к культурам *Aspergillus amstelodami*, *Aspergillus oryzae*, *Aureobasidium pullulans*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium chrysogenum* и *Trichoderma viride* данный полимер получил оценку грибостойкости в 3–4 балла, т.е. являлся негрибостойким.

**Грибостойкость блок-сополимеров хитозана с крахмалом
и полиакриламидом**

Вид гриба	Степень обрастания в баллах		
	блок-сополимер крахмал – ХТЗ	блок-сополимер ХТЗ – пАА	2% пАА
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	5	2	0
<i>Aspergillus amstelodami</i> (Mangin) Thom et Church	5	4	1
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	5	0	0
<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn.	5	3	1
<i>Aureobasidium pullulans</i> (Bubak) W. B. Cooke	4	3	0
<i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler	5	1	0
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	1	0	0
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon	5	3	0
<i>Penicillium ochro-chloron</i> Biourge	5	2	0
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	4	3	1
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	4	3	0
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	3	0	0
<i>Penicillium brevi-compactum</i> Dierckx	0	0	0
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	5	2	2
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Saccardo) Bainier	4	0	0
<i>Trichoderma viride</i> Persoon	4	4	1

3.1.3. Оценка устойчивости полимеров, содержащих целлюлозу, к деструктивному воздействию микроскопических грибов

Вызывает интерес вопрос биостойкости полимерных материалов, синтезированных на основе целлюлозы. Нами были получены образцы бумаги (синтезированные из бумажной дисперсии на основе отходов из подсеточной массы горизонтальных бумажных машин типа Фурдринье (ООО ЦБК «Волга», г. Балахна), обработанные смесями двух видов хитозана и синтетического полиакрилового флокулянта (ПАФ)). В данной серии экспериментов использование хитозана было обосновано тем, что в литературе, в частности в работе Покровской (1995) было показано, что введение хитозана в некоторые сорта бумаг повышает их грибостойкость. Результаты данного эксперимента представлены в таблице 3.9.

Результаты исследований показывают, что испытанные материалы обладают разной устойчивостью к действию микромицетов. В частности исходные образцы бумаги были негрибостойкими и получили оценку в 4–5 баллов. Тогда как у бумаги, обработанной хитозанами, несколько повысилась устойчивость к действию отдельных видов грибов: *Aspergillus terreus*, *Aspergillus oryzae*, *Penicillium brevi-compactum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, которая оценивалась нами в 3 балла. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что обработка бумаги хитозаном способна в незначительной степени увеличивать её биостойкость, что подтверждает имеющиеся литературные данные. Однако результаты наших экспериментов не позволяют с полной уверенностью говорить о том, что повышение грибостойкости бумаги может происходить только за счёт введения хитозана, возможно этот эффект связан и с введением в образцы бумаги полиакрилового флокулянта.

Таблица 3.9

Грибостойкость различных образцов бумаги

Вид гриба	Степень обрастания в баллах		
	бумага / 0.01% ХТЗ / 0.01% ПАФ	бумага / 0.01% ХТЗ, модифицированный аминами / 0.01% ПАФ	бумага исходная
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	3	4	4
<i>Aspergillus amstelodami</i> (Mangin) Thom et Church	4	4	5
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	5	5	5
<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn.	3	3	4
<i>Aureobasidium pullulans</i> (Bubak) W. B. Cooke	4	5	4
<i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler	4	4	4
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	4	5	4
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon	5	5	5
<i>Penicillium ochro-chloron</i> Biourge	5	5	5
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	4	4	4
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	4	4	4
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	5	5	5
<i>Penicillium brevi-compactum</i> Dierckx	4	3	4
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	5	5	5
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Saccardo) Bainier	3	3	4
<i>Trichoderma viride</i> Persoon	5	4	4

3.1.4. Изучение влияния крахмала на биоразлагаемость синтетических полимеров

Весьма перспективным является получение полимерных материалов с ограниченным сроком эксплуатации, т. е. по истечении этого срока данные материалы будут способны легко утилизироваться. Для этих целей также используются природные полимеры — в частности крахмал (Каневская, 1984). В данной серии экспериментов проводилось введение крахмала в полимерную матрицу полиметилакрилата с целью повышения биоразлагаемости материала. Данные полимерные композиции были испытаны на грибостойкость. Грибостойкими считались образцы, получившие оценку степени обрастания не более 2-х баллов. Результаты испытаний представлены в таблице 3.10.

Анализ полученных данных показывает, что картофельный крахмал хорошо утилизируется практически всеми культурами микроскопических грибов за исключением *Fusarium moniliforme*, а полиметилакрилат представляет собой весьма устойчивый к действию микромицетов материал, грибостойкость которого по отношению ко всем штаммам плесневых грибов, за исключением *Aspergillus amstelodami*, не превышала одного балла. Результаты испытаний полимерных композиций из крахмала и полиметилакрилата показали наличие двух высокоэффективных грибов-деструкторов данных материалов: *Aspergillus oryzae* и *Paecilomyces variotii*. Степень деструкции ими данных полимеров была оценена в 4–5 баллов. Полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что композиции на основе крахмала и полиметилакрилата в присутствии грибов *Aspergillus oryzae* и *Paecilomyces variotii*, будут легко утилизироваться за счет введения крахмала в полимерную матрицу. Независимо от типа воздействия (негативное или позитивное), механизм процесса биодеструкции един. Зная его, можно активировать или ингибировать этот процесс и при необходимости либо защищать полимерные материалы, либо ускорять их деструкцию.

Грибостойкость сополимеров крахмала и полиметилакрилата

Вид гриба	Степень обрастания в баллах			
	картофельный крахмал	полиметилакрилат–крахмал (в доле 1:1)	полиметилакрилат–крахмал (в доле 2:1)	полиметилакрилат
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	5	0	0	1
<i>Aspergillus amstelodamii</i> (Mangin) Thom et Church	5	0	0	3
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	5	0	0	0
<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn.	5	4	5	1
<i>Aureobasidium pullulans</i> (Bubak) W. B. Cooke	5	0	0	1
<i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler	5	0	0	1
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	5	0	0	1
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon	2	0	0	1
<i>Penicillium ochro-chloron</i> Biourge	5	0	0	0
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	5	0	0	1
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	4	0	0	0
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	5	0	0	1
<i>Penicillium brevi-compactum</i> Dierckx	3	0	0	1
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	5	4	4	1
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Saccardo) Bainier	4	0	0	1
<i>Trichoderma viride</i> Persoon	4	0	0	0

3.2. Оценка устойчивости полимерных материалов к деструктивному воздействию отдельных видов микромицетов-деструкторов и их ассоциаций в природных и лабораторных условиях

3.2.1. Сравнительная оценка устойчивости к деструктивному воздействию грибов у полимерных материалов при испытаниях стандартным и модифицированным методами

Длительный опыт работы в области биоповреждений полимерных материалов показывает, что существующие стандартные методики испытаний на грибостойкость имеют ряд недостатков (Смирнов и др., 2000). Известно, что в биосфере микроорганизмы практически никогда не действуют «в одиночку». Их жизнедеятельность, взаимодействие с окружающей средой являются результатом сложных взаимоотношений между разными видами (Нетрусов, 2013).

Полимерный материал можно рассматривать как экологическую нишу для грибов-деструкторов, а внутри каждой экониши действует правило Гаузе: «только один вид может доминировать в данных условиях». Поэтому одним из существенных, на наш взгляд, недостатков является то, что испытания на грибостойкость проводятся не к отдельным культурам грибов-деструкторов, а к ассоциации этих культур. В этом случае в ассоциативной культуре не учитываются антагонистические взаимоотношения между грибами (антибиоз, угнетение роста, развития, размножения или иных проявлений жизнедеятельности одних микроорганизмов другими), что может искажать оценку грибостойкости. Антагонизм широко распространен в природных микробных сообществах и может быть как односторонним (микроорганизм подавляет развитие своего конкурента, не реагируя на воздействие соперника), так и двусторонним (происходит взаимное угнетение микроорганизмов в сообществе). Следует отметить, что явление

антагонизма среди грибов достаточно хорошо известно (Мирчник, 1976; Билай, 1982).

В этом плане, на наш взгляд, интересны данные, представленные в таблице 3.1. Полученные нами результаты демонстрируют различную устойчивость полимерных материалов к действию микромицетов при испытаниях в условиях ассоциативной культуры и к отдельным видам грибов. Как видно из таблицы ассоциативная культура вообще не растет на клее «Лейконат» и герметике УТ-34, тогда как данные материалы поражаются грибом *Aspergillus terreus* на 3 балла. Подобные тенденции проявляются также и в случае с компаундом ЭЗК-6 и стеклотекстолитом СТЭФ-1, на которых также не растёт ассоциативная культура, но, тем не менее, компаунд ЭЗК-6 поражается грибом *Chaetomium globosum* на 1 балл, а СТЭФ-1 на 1 балл культурами *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium*, *Raecilomyces variotii* и культурой *Trichoderma viride* на 2 балла.

Полученные нами результаты говорят о том, что испытание полимерных материалов согласно ГОСТам с использованием ассоциативной культуры может приводить к искажению оценки грибостойкости. На наш взгляд более объективная картина может быть получена при испытаниях к отдельным видам грибов. Все это необходимо учесть в новых редакциях ГОСТов.

В рамках данного исследования мы не проводили специальных экспериментов по выявлению микромицетов-антагонистов среди используемых нами тест-культур, однако из литературных данных известно, что для рода *Trichoderma* известно образование биологически активных веществ, обуславливающих антагонизм с другими микромицетами (Александрова, 2003). Для видов рода *Raecilomyces* известно образование микотоксинов, что делает их возможными антагонистами микобиоты (Воронина, 2011). Некоторая антагонистическая активность известна и для *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. candidus*, *A. versicolor*, *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T.*

pseudokoningii, *Fusarium culmorum*, *F. tricinctum* и *Alternaria alternata* (Бадалян, 2004).

Выполненный нами комплекс исследовательских работ позволяет сделать следующие обобщения:

Среди изучавшихся нами синтетических и природных полимеров имеется определённый спектр негрибостойких и грибостойких материалов. Низкой устойчивостью к действию микроскопических плесневых грибов характеризуются: пластик АБС-2020-31, полистирол УПС-825Д, гетерополимерные композиции на основе механических смесей хитозана с поливинилпирролидоном и поливиниловым спиртом, привитые сополимеры акрилонитрила на хитозан, блок сополимеры хитозана с крахмалом и полиакриламидом, материалы на основе целлюлозы, сополимеры крахмала и полиметилакрилата. Высокой устойчивостью к микроскопическим грибам отличаются: клей «Лейконат», клей-мастика ГИПК-23-12, компаунд ЭЗК-6, стеклотекстолит СТЭФ-1, полиакрилонитрил, полиакриламид, полиметилакрилат — это говорит о том, что данные материалы не могут нормально утилизироваться в естественных условиях и в долгосрочной перспективе это будет приводить к загрязнению окружающей среды отходами данных материалов и токсичными продуктами, входящими в их состав.

В свете вышеизложенного, перспективным направлением представляется создание биоразлагаемых материалов из смесей синтетических и природных полимеров. В частности, нами показано, что благодаря введению крахмала в полимерную матрицу синтетического полимера можно создавать композиции, легко утилизирующиеся микромицетами. Также небезынтересным является использование природного полимера хитозана для создания полимерных композиций. Нами было показано, что, полимеризуя хитозан с различными синтетическими полимерами в различных условиях, можно создавать как хорошо утилизируемые грибами материалы, так и материалы, устойчивые к

воздействию плесневых грибов — это открывает перспективы для создания материалов с регулируемой биостойкостью и прогнозируемым сроком жизни.

Полученные результаты показывают, что все изучавшиеся нами материалы обладают различной устойчивостью к действию разных грибов-деструкторов. Материалы различного состава поражаются разными микромицетами. Объяснить это, на наш взгляд, можно физиолого-биохимическими особенностями тех или иных видов микромицетов — наличием у них различных комплексов агрессивных метаболитов, позволяющих поражать разные виды полимерных материалов.

Также нами было показано, что интенсивность процесса биоповреждения микроскопическими грибами зависит от компонентов в составе материала, однако наличие или отсутствие грибостойких свойств у полимера будет определяться спецификой взаимодействий всех компонентов данной полимерной композиции.

Проделанная нами работа позволяет предложить следующую рекомендацию по изменению и дополнению ГОСТовских испытаний различных материалов на грибостойкость: стандартные методики необходимо дополнить испытаниями к отдельным видам грибов для получения более объективных результатов, т.к. испытания с использованием ассоциативной культуры могут приводить к искажению оценки грибостойкости.

3.2.2. Выявление природных деструкторов полимерных композиций на основе природных и синтетических полимеров

На данном этапе работы нами ставилась задача выделить из природной среды «дикие» штаммы микромицетов, способных участвовать в деструктивных процессах исследуемых полимерных композиций. Моделью природных условий служили оранжереи тропических и субтропических растений ботанического сада ННГУ, куда помещались исследуемые материалы. В чистые культуры нами были выделены с обследуемых

материалов 168 изолятов, относящихся к 3 классам, 4 порядкам, 5 семействам, 27 видам.

Видовой состав микромицетов, выделенных с полимерных композиций в природных условиях:

<i>Alternaria humicola</i>	<i>Botryosporium longibrachiatum</i>	* <i>Penicillium cyclopium</i>
* <i>Alternaria alternata</i>	<i>Botrytis terrestris</i>	<i>Penicillium fellutanum</i>
* <i>Aspergillus flavus</i>	* <i>Chaetomium globosum</i>	* <i>Penicillium funiculosum</i>
* <i>Aspergillus niger</i>	<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Penicillium lanosum</i>
<i>Aspergillus sydowi</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	* <i>Penicillium martensii</i>
* <i>Aspergillus terreus</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	* <i>Penicillium purpurogenum</i>
<i>Aspergillus ustus</i>	<i>Monilia sitophila</i>	<i>Stemphylium macrosporoideum</i>
<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Mucor globosus</i>	* <i>Trichoderma koningii</i>
* <i>Aureobasidium pullulans</i>	* <i>Paecilomyces carneus</i>	* <i>Trichoderma viride</i>

*– штаммы грибов истинных деструкторов полимерных композиций

Известно, что не все виды грибов, рост которых обнаруживается на полимерных материалах, являются истинными деструкторами, т. е. способными использовать сам материал (его компоненты) в качестве источника питания. На полимерных материалах могут находиться случайные штаммы, рост которых происходит за счет утилизации ими различных органических загрязнений, находящихся на поверхности материалов.

В лабораторных условиях исследованные образцы полимерных композиций нами были очищены от внешних загрязнений и инокулированы спорами изолятов грибов, выделенных с соответствующих материалов в чистую культуру. Как видно из таблицы 3.11, истинными деструкторами полимерных материалов оказались только штаммы микромицетов, относящихся к 13 видам, тогда как рост других штаммов, относящихся к 14 видам, происходил за счет внешних загрязнений.

Таблица 3.11

Истинные деструкторы полимерных материалов, выделенные
в природных условиях

№ п/п	Полимерный материал	Истинные деструкторы
1	2	3
1.	Привит. соп. ХТЗ-МА 1:1	<i>Aspergillus niger</i>
		<i>Aspergillus terreus</i>
		<i>Paecilomyces carneus</i>
		<i>Penicillium martensii</i>
2.	Блок-сополимер ХТЗ-МА 1:3	<i>Aspergillus niger</i>
		<i>Aspergillus terreus</i>
		<i>Paecilomyces carneus</i>
		<i>Penicillium martensii</i>
3.	Привит. соп. ХТЗ-АА	<i>Aspergillus flavus</i>
		<i>Aspergillus terreus</i>
		<i>Aureobasidium pullulans</i>
		<i>Paecilomyces carneus</i>
		<i>Penicillium martensii</i>
4.	Смесь привит. соп. ХТЗ-АА + пАА	<i>Aureobasidium pullulans</i>
		<i>Paecilomyces carneus</i>
		<i>Penicillium martensii</i>
5.	Привит. соп. ХТЗ-АН 1:1	<i>Paecilomyces carneus</i>
		<i>Penicillium cyclopium</i>
		<i>Penicillium martensii</i>
6.	Блок-сопол. ХТЗ-МА солевая форма	<i>Aspergillus terreus</i>
		<i>Paecilomyces carneus</i>
7.	ПВХ:ХТЗ 1:0,1	<i>Aspergillus flavus</i>
		<i>Aspergillus terreus</i>
		<i>Paecilomyces carneus</i>
8.	ПВХ : ХТЗ 1:0,2	<i>Paecilomyces carneus</i>
		<i>Penicillium cyclopium</i>
		<i>Penicillium martensii</i>
9.	ПВХ : крахмал 1:0,5	<i>Alternaria alternata</i>
		<i>Aureobasidium pullulans</i>
10.	ПВС 3% : крахмал 3%	<i>Aspergillus niger</i>
		<i>Aspergillus terreus</i>
		<i>Penicillium cyclopium</i>
11.	ПВХ : опилки 1:0,2	<i>Chaetomium globosum</i>
		<i>Cladosporium herbarum</i>
		<i>Trichoderma viride</i>

Продолжение таблицы 3.11

1	2	3
12.	ПВХ: опилки 1:0,5	<i>Aspergillus flavus</i>
		<i>Trichoderma koningii</i>
		<i>Trichoderma viride</i>
13.	ПВХ : этилметилцеллюлоза 1:0,2	<i>Aspergillus terreus</i>
		<i>Penicillium funiculosum</i>
		<i>Penicillium cyclopium</i>
14.	ПВХ : оксиэтилцеллюлоза 1:0,2	<i>Aspergillus terreus</i>
		<i>Penicillium purpurogenum</i>

Все 43 штамма истинных деструкторов-микробицетов нами были выделены в чистую культуру и охарактеризованы как серия НУ-ГЗ/ №.

Следует отметить, что среди природных деструкторов имеются виды, которые используются при стандартных испытаниях полимерных материалов на устойчивость к действию микроскопических грибов.

3.2.3. Исследование устойчивости ряда полимерных композиций к деструктивному действию стандартных и «диких» культур микробицетов

3.2.3.1. Исследование устойчивости ряда полимерных композиций к деструктивному действию стандартных культур микробицетов

На следующем этапе работы была проведена оценка устойчивости синтезированных нами композиций к действию стандартных культур плесневых грибов по ГОСТ 9.049-91. Данные культуры грибов были получены из Всероссийской коллекции микроорганизмов и являются активными разрушителями самых различных полимерных материалов природного и синтетического происхождения.

В этой серии опытов мы хотели ответить на вопрос: способны ли данные тест-организмы использовать синтезированные нами композиции в качестве источника питания? В таблице 3.12 представлены результаты оценки грибостойкости отдельных природных и синтетических полимеров,

которые использовались нами для получения различных композиционных материалов. Материал считается грибостойким, если степень роста на нем грибов не превышала 2-х баллов. Анализ результатов показал, что полимеры обладали различной устойчивостью к действию грибов. Наибольшей устойчивостью обладали полиметилакрилат и полиакрилонитрил. Легко утилизируемыми полимерами оказались хитозан, поливинилхлорид, поливиниловый спирт, крахмал, древесные опилки, этилцеллюлоза. Таким образом, среди исследованных нами материалов были как грибостойкие, так и негрибостойкие. Все это позволило нам предположить, что при использовании данных полимеров исходя из их естественной природной грибостойкости можно получить как устойчивые, так и легко утилизируемые микромицетами полимерные композиции.

Таблица 3.12

Устойчивость полимеров к действию ассоциативной культуры микромицетов
по ГОСТ 9.049-91

Вид полимера	Грибостойкость в баллах (по методу 1)	Оценка грибостойкости по ГОСТ 9.049-91
Хитозан	5	негрибостойкий
Полиметилакрилат	1	грибостойкий
Полиамид	3	негрибостойкий
Полиакрилонитрил	2	грибостойкий
Поливинилхлорид	4	негрибостойкий
Поливиниловый спирт	4	негрибостойкий
Опилки (сосна)	5	негрибостойкий
Крахмал	5	негрибостойкий
Оксиэтилцеллюлоза	3	негрибостойкий
Этилметилцеллюлоза	4	негрибостойкий

В таблице 3.13 представлены результаты исследований по устойчивости к действию микромицетов композиций на основе указанных выше природных и синтетических полимеров. Оценка грибостойкости осуществлялась не только к ассоциативной культуре микроорганизмов, но и к отдельным видам микромицетов – активных биodeградантов промышленных и строительных материалов. Таким образом, на данном этапе работы нами также было получено экспериментальное подтверждение нашего предположения о том, что о грибостойкости полимерных композиций (сополимерных или механических) нельзя судить исходя из грибостойкости их составляющих. Анализ результатов данной серии опытов показывает, что в результате химических взаимодействий в композиционных материалах свойство грибостойкости может меняться в ту или иную сторону. В противоположность индивидуальным полимерам, – ПВХ, этилметилцеллюлозе, хитозану, сосновым опилкам, крахмалу, оксиэтилцеллюлозе – все композиции на основе ПВХ, полученные по пластизольной технологии с включением других биodeградируемых компонентов оказались плохим субстратом для грибов (табл. 3.13, образцы № 7-9 и № 11-14). Напротив, композиции на основе ХТЗ и МА (образцы № 1 и № 2) по отношению к большинству тест-культур являются легко утилизируемыми (рост грибов оценивается в 3-5 баллов). В случае же блок-сополимера хитозана в солевой форме и метилакрилата (образец № 6) композиция проявляет хорошую устойчивость к действию микроскопических грибов. Легко утилизируемыми грибами композиции были: сополимер хитозана и акрилонитрила (образец № 5), смесь поливинилового спирта с крахмалом (образец № 10).

По результатам проведенных экспериментов были выявлены наиболее активные биodeграданты исследуемых полимерных композиций: *Aspergillus niger*, *A. terreus*, *Penicillium cyclopium*, *P. chrysogenum*, *Trichoderma viride*.

Устойчивость полимерных композиций к микроскопическим плесневым грибам

№	Полимерный материал	Степень обрастания в баллах по ГОСТ 9.049-91 (метод 1)										
		<i>A. oryzae</i> BKM F-2096	<i>A. niger</i> BKM F-1119	<i>A. terreus</i> BKM F-1025	<i>Chaet. globosum</i> BKM F-109	<i>Paecil. variotii</i> BKM F-378	<i>Penic. funicul osum</i> BKM F-1115	<i>Penic. chrysog enum</i> BKM F-245	<i>Penic. cyclopi um</i> BKM F-245	<i>Trich. viride</i> BKM F-1117	ассоциац. грибов	Активные биодегрантанты
1	Прив. сп. ХТЗ – МА	3	5	3	4	4	4	4	5	2	4	<i>A. nig.</i> <i>P. cys.</i>
2	Блок-сп.ХТЗ – МА	3	3	5	5	3	4	4	5	4	4	<i>A. terr.</i> <i>Chaet. globos.</i> <i>P. cys.</i>
3	Прив. сп. ХТЗ – АА	2	2	2	2	1	3	1	1	1	2	<i>P. funicul.</i>
4	Смесь привит соп. ХТЗ-АА+ПАА	1	2	3	3	1	1	1	1	1	1	<i>A. terr.</i> <i>Chaet. globos.</i>
5	Прив. сп. ХТЗ-АН	3	3	4	4	4	4	4	5	5	4	<i>P. cys.</i> <i>Tr. viride</i>
6	Блок-сп. ХТЗ-МА солевая форма	0	0	1	1	0	1	0	1	1	2	<i>A. terr., P. cys.</i>
7	ПВХ:ХТЗ 1:0.1	1	0	1	2	1	0	2	1	1	1	<i>Chaet. globos.</i> <i>P. chr.</i>
8	ПВХ:ХТЗ 1:0.2	2	1	3	1	0	0	0	1	1	1	<i>A. terr.</i>
9	ПВХ:крахмал 1:0.5	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	<i>A. terr.</i> <i>Chaet. globos.</i>
10	Смесь ПВС 3% и крахмала 3%	4	2	5	4	4	4	4	5	4	5	<i>P. cys.</i> <i>P. chr.</i>
11	ПВХ: опилки 1:0.2	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	<i>A. ter.</i> <i>Tr. vir.</i>
12	ПВХ: опилки 1:05	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	<i>A. ter.</i> <i>Tr. vir.</i>
13	ПВХ:этилметилцеллюлоз а 1:02	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	<i>A. ter.</i>
14	ПВХ:оксиэтилцеллюлоза 1:0.2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	<i>A. ter.</i>

3.2.3.2. Исследование устойчивости ряда полимерных композиций к деструктивному действию «диких» культур микромицетов

Представляло интерес сравнить способность исследуемых полимерных композиций использоваться в качестве источника питания стандартными и «дикими» культурами микромицетов. В данных опытах нами использовались наиболее активные «дикие» штаммы грибов, рост которых наблюдался на исследуемых полимерных композициях. Результаты представлены в таблице 3.14.

Анализ результатов показывает, что тенденция устойчивости полимерных композиций различного состава к действию штаммов «диких» микромицетов, аналогична действию на полимерные композиции стандартных тест-культур грибов. Однако следует отметить, что дикие штаммы проявили более низкие деструктивные способности по сравнению со стандартными тест-культурами грибов. Исключение составлял только гриб *Aspergillus flavus*, который в ряде случаев вызывал более интенсивную деструкцию исследуемых полимеров по сравнению со стандартными культурами.

Следовательно, можно с уверенностью утверждать, что набор тест-культур плесневых грибов, входящих в ГОСТы для испытаний полимерных материалов на стойкость к воздействию микромицетов недостаточен. При проведении соответствующих испытаний нужно дополнительно вводить в состав стандартного набора тест-культур грибы, выделенные с данных материалов в условиях их эксплуатации в естественных природных условиях и являющиеся их истинными деструкторами.

Таблица 3.14

Устойчивость полимерных композиций к культурам «диких» микромицетов

Полимерный материал	Степень обрастания в баллах												
	<i>Tr. konin-gii</i> НУ-ГЗ/5	<i>Tr. viri-de</i> НУ-ГЗ/2	<i>Paec. carneus</i> НУ-ГЗ/15	<i>P. mart-ensii</i> НУ-ГЗ/12	<i>A. terre-us</i> НУ-ГЗ/10	<i>A. niger</i> НУ-ГЗ/1	<i>A. fla-vus</i> НУ-ГЗ/3	<i>Aureo-bas. pull.</i> НУ-ГЗ/8	<i>P. cycl.</i> НУ-ГЗ/4	<i>Alt. alt.</i> НУ-ГЗ/2	<i>Chaet. glob.</i> НУ-ГЗ/11	<i>P. funic.</i> НУ-ГЗ/7	<i>P. purpur.</i> НУ-ГЗ/13
Прив. сп. ХТЗ – МА	1	1	3	3	3	3	3	2	2	1	1	2	2
Блок-сп. ХТЗ – МА	1	2	3	3	4	3	2	1	1	2	1	2	1
Прив. сп. ХТЗ – АА	1	1	2	2	2	1	2	2	1	1	0	1	0
Смесь привит соп. ХТЗ-АА+ПАА	1	1	2	2	1	1	1	2	0	1	0	1	0
Прив. сп. ХТЗ-АН	1	2	4	4	3	2	1	2	4	1	1	1	1
Блок-сп. ХТЗ-МА солевая форма	0	1	2	2	1	1	0	1	0	1	0	1	0
ПВХ:ХТЗ 1:0.1	0	1	2	1	2	0	3	1	1	0	1	0	1
ПВХ:ХТЗ 1:0.2	1	1	2	2	1	1	2	1	1	1	0	1	1
ПВХ:крахмал 1:0.5	0	1	1	1	0	1	1	2	1	2	0	1	0
Смесь ПВС 3% и крахмала 3%	1	2	2	1	5	4	3	2	4	2	2	2	1
ПВХ: опилки 1:0.2	1	2	1	1	1	0	1	0	1	1	2	0	0
ПВХ: опилки 1:05	2	2	0	1	1	0	2	0	0	0	2	1	0
ПВХ:этилметилцеллюлоза 1:02	1	1	0	1	2	0	1	0	2	0	1	2	0
ПВХ:оксиэтилцеллюлоза 1:0.2	1	1	0	0	2	0	1	0	1	0	1	0	2

3.2.4. Действие микромицетов на некоторые физико-механические свойства лакокрасочных и полимерных материалов

Проведённые нами ранее исследования на наличие грибостойких свойств у различных полимерных материалов позволили выявить микромицетов – активных деструкторов испытанных нами полимеров. Известно, что рост грибов сопровождается не только деструкцией материала, но и изменением его физико-механических свойств. Поэтому на данном этапе работы перед нами стояла задача – изучить, как влияют микромицеты-деструкторы на физико-механические свойства полимерных материалов.

Рост плесени на полимерах приводит не только к их деструкции (изменению химического состава и старению), но и к ухудшению их физико-механических свойств. В ряде случаев ухудшение физико-механических свойств происходит на самом начальном этапе процесса биоповреждений, когда еще деструктивные процессы остаются незаметными. В связи с этим, изменение физико-механических свойств материалов в процессе роста на них грибов рядом авторов (Ермилова, 1991; Емельянов, 1997) рассматривается в качестве одного из критериев грибостойкости и ранних признаков обнаружения процессов биоповреждений.

В качестве объектов исследований в этой серии экспериментов использовалась эмульсия Акрэмос 203 Б (основа акрилатных красок).

Были измерены следующие характеристики пленки эмульсии Акрэмос-203 Б, составляющей основу акрилатных красок: твердость пленки по маятниковому прибору, разрушающее напряжение при разрыве (σ_p) и относительное удлинение (ϵ_p) (табл. 3.15).

Таблица 3.15

Влияние микроскопических грибов-деструкторов на физико-механические характеристики пленки эмульсии Акрэмос-203 Б при экспозиции 14 суток

Наименование показателей	Свойства пленки эмульсии Акрэмос-203 Б	
	Исходные	После действия ассоциативной культуры грибов по ГОСТ 9.050-75
Твердость пленки по маятниковому прибору (у.е.)	0,5	0,4
σ_p (МПа)	340	220
ε_p (%)	980	680

$$p < 0,05, \quad U_{\text{тн}=4}=1, \quad U_{\text{он}=4}=1$$

Данные таблицы 3.15 показывают, что воздействие микромицетов способствует значительному ухудшению физико-механических свойств пленки эмульсии Акрэмос-203 Б.

Анализируя результаты экспериментов, представленных в данном разделе, можно отметить, что процесс биоповреждения полимерных материалов тесно связан с изменением их физико-механических свойств. Полученные результаты могут лечь в основу разработок методов ранней диагностики биоразрушений полимерных материалов, т.к. изменение исследованных нами свойств может иметь место на самых первых стадиях биоповреждений, когда разрушение материала еще незначительно.

В дальнейшем нами была поставлена следующая серия опытов: на первом этапе нами изучалось действие плесневых грибов на привитые сополимеры акрилонитрила на хитозан. Объектами исследования были следующие полимерные композиции: полимер №1 (ХТЗ + ДАК + 7 мл АН); полимер № 2 (ХТЗ + Co^{3+} + 7мл АН); полимер № 3 (ХТЗ + Co^{3+} + 12 мл АН). Нами исследовалось комплексное действие грибов *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* и *Penicillium ochro-cloron* (в ранее проведенных нами опытах зарекомендовавших себя как активные деструкторы данных материалов) на изменение механической прочности, выражающейся через

разрушающее напряжение (Н/см^2). Силу разрыва определяли на разрывной машине МР–05. Измерения проводились как до воздействия грибов, так и в период 30 дневного выдерживания образцов в чашках Петри на поверхности газона грибов, пророщенного из равных объёмов суспензий спор вышеуказанных культур микромицетов, при относительной влажности воздуха 98% и температуре $28 \pm 2^\circ \text{C}$. Результаты данного опыта представлены на рисунке 3.1. Установлено, что уже на 5 сутки прочность снижается для полимера № 1 на 47,8%; для полимера № 2 на 31,1%; для полимера № 3 на 27,3%.

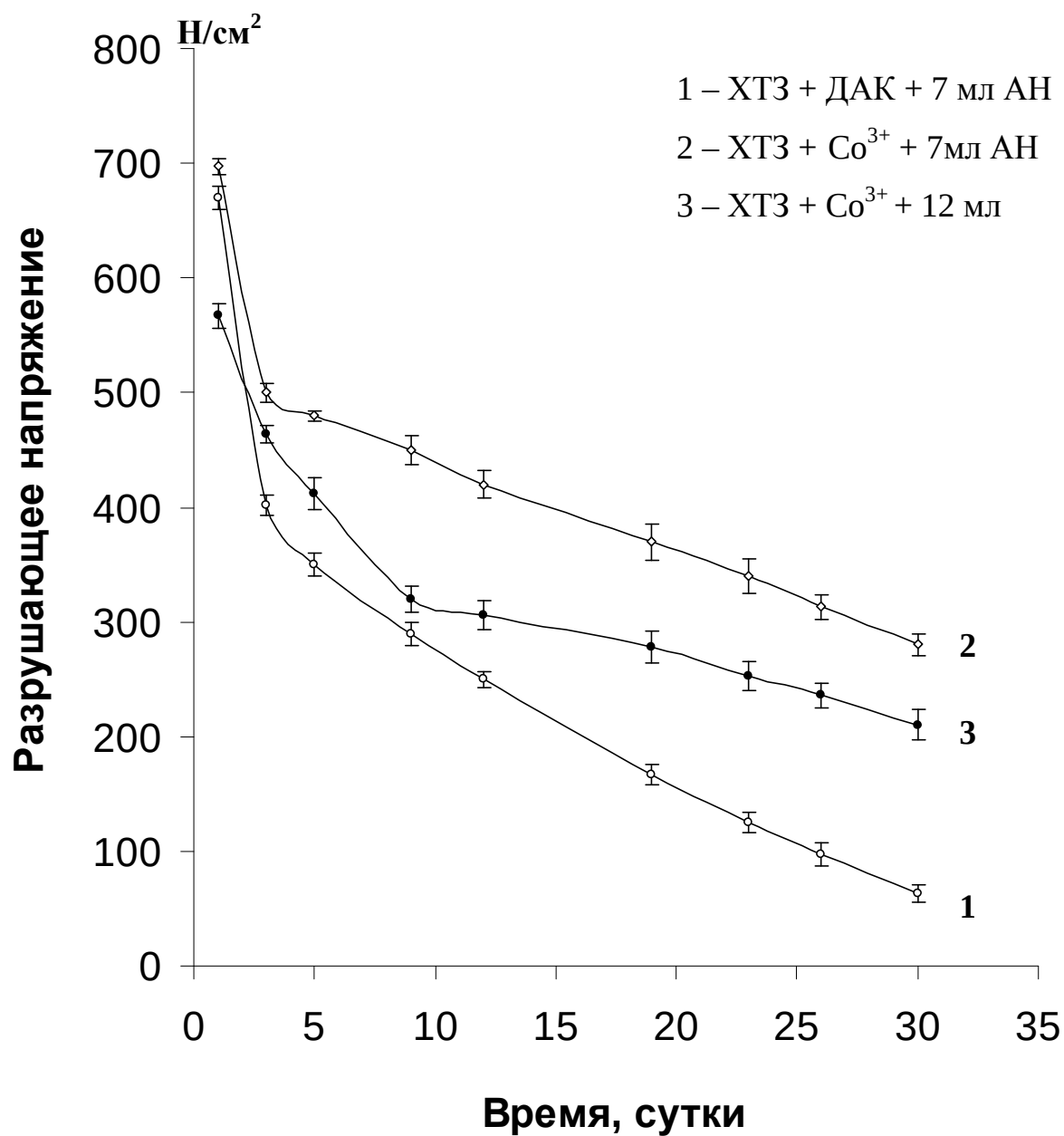


Рис. 3.1 Изменение механической прочности привитых сополимеров акрилонитрила на хитозан под действием микроскопических плесневых грибов

Всего же за 30 суток механическая прочность снизилась: для полимера № 1 на 90,5%; для полимера № 2 на 60,0%; для полимера № 3 на 63,0%. Т.о. результаты данного эксперимента показывают, что изменения механической прочности исследуемых полимеров происходит на самых первых этапах биодеструкции грибами данных материалов, причём отмечено, что степень изменения механических свойств полимерных композиций связана с их грибостойкостью. Так у менее грибостойкой композиции № 1 в большей степени наблюдается изменение физико-механических свойств.

Также представляло интерес изучить действие микромицетов-деструкторов на изменение механической прочности материалов на основе целлюлозы. С этой целью нами были взяты образцы бумаги, обработанные смесью 0,01% ХТЗ, модифицированного аминами и 0,01% ПАФ, ранее испытанные нами на грибостойкость. Исследовалось комплексное действие грибов *Aspergillus niger*, *Fusarium moniliforme* и *Penicillium cyclopium* (в ранее проведённых нами опытах зарекомендовавших себя как активные деструкторы этого материала) на изменение механической прочности. Исследование проводилось по той же методике, что и в первом эксперименте. Результаты данного эксперимента представлены на рисунке 3.2. Установлено, что на 5 сутки прочность образцов бумаги снизилась на 15,2%, а за 28 суток на 79%. Полученные результаты позволяют сделать следующий вывод — бумага даже после обработки ХТЗ и ПАФ будет подвергаться деструкции микроскопическими грибами.

Нами было показано, что ухудшение физико-механических свойств под действием микромицетов происходит гораздо раньше, чем наступает видимое разрушение материала. Также как и в предыдущем эксперименте наибольшая степень изменения физико-механических свойств наступает в первые дни развития процесса биоповреждения и также в этом эксперименте, как и в предыдущем, отмечается прямая зависимость между грибостойкостью и изменением физико-механических свойств материала.

Также нами изучалось действие штаммов-деструкторов из списка ГОСТ 9.049–75(91) на физико-механические свойства привитых сополимеров натрий-карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) с метилакрилатом (МА) и блок-сополимеров Na-КМЦ–МА. Одним из важнейших свойств полимера является его молекулярная масса – её уменьшение свидетельствует о деструктивных процессах. Об изменении молекулярной массы в данном случае судили по характеристической вязкости раствора полимера, которую определяли вискозиметрическим методом, используя в качестве растворителя для полимеров 5% NaOH. Для контроля аналогичный эксперимент был проведён для чистой Na-КМЦ. Результаты эксперимента представлены на рисунке 3.3. Ранее нами было показано, что блок-сополимер Na-КМЦ–МА является более грибостойким, чем привитой сополимер. Результаты данного эксперимента подтвердили данный факт: показано, что характеристическая вязкость (а, следовательно, и молекулярная масса) в течение 20 суток у привитого сополимера

Na-КМЦ–МА снижается на 83, 3%, а у блок-сополимера только на 60, 4%. В проведённых нами ранее экспериментах было показано, что метилакрилат является грибостойким веществом и в крайне незначительной степени поражается плесневыми грибами. Поэтому полученные нами результаты, показывающие уменьшение молекулярной массы под действием плесневых грибов у чистого Na-КМЦ и полимеров Na-КМЦ–МА, могут служить подтверждением другого нашего предположения о том, что введение в полимерную матрицу легко утилизируемого микромицетами вещества (чаще всего природного) будет облегчать утилизацию всего полимера, даже в том случае если он содержит грибостойкий компонент.

Т.о. нами было показано, что процесс деструкции полимеров микромицетами сопровождается изменением их физико-механических свойств. Следовательно, физико-механические свойства могут выступать одним из критериев оценки грибостойкости полимерного материала.

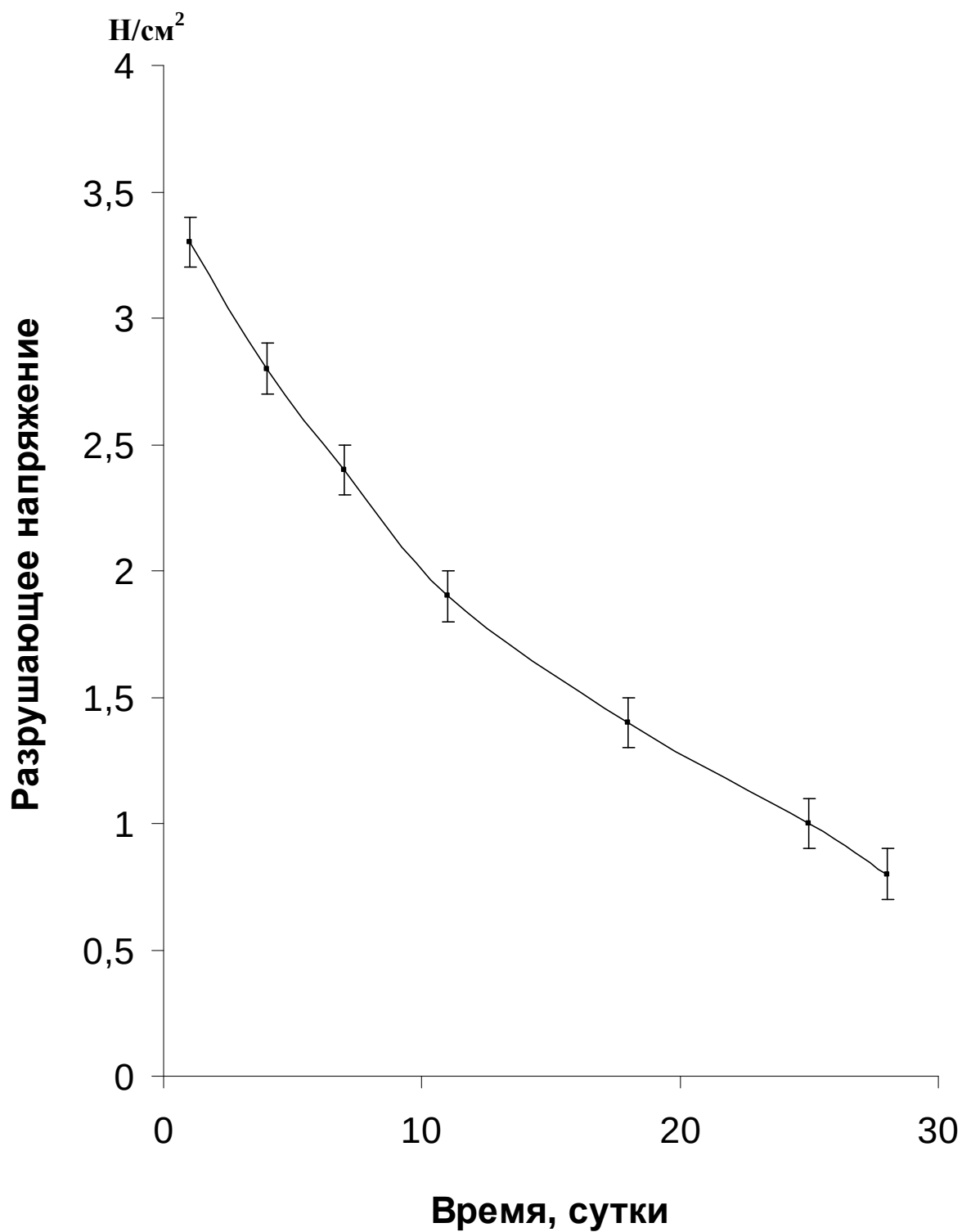


Рис. 3.2 Изменение механической прочности образцов бумаги, обработанной смесью ХТЗ и ПАФ

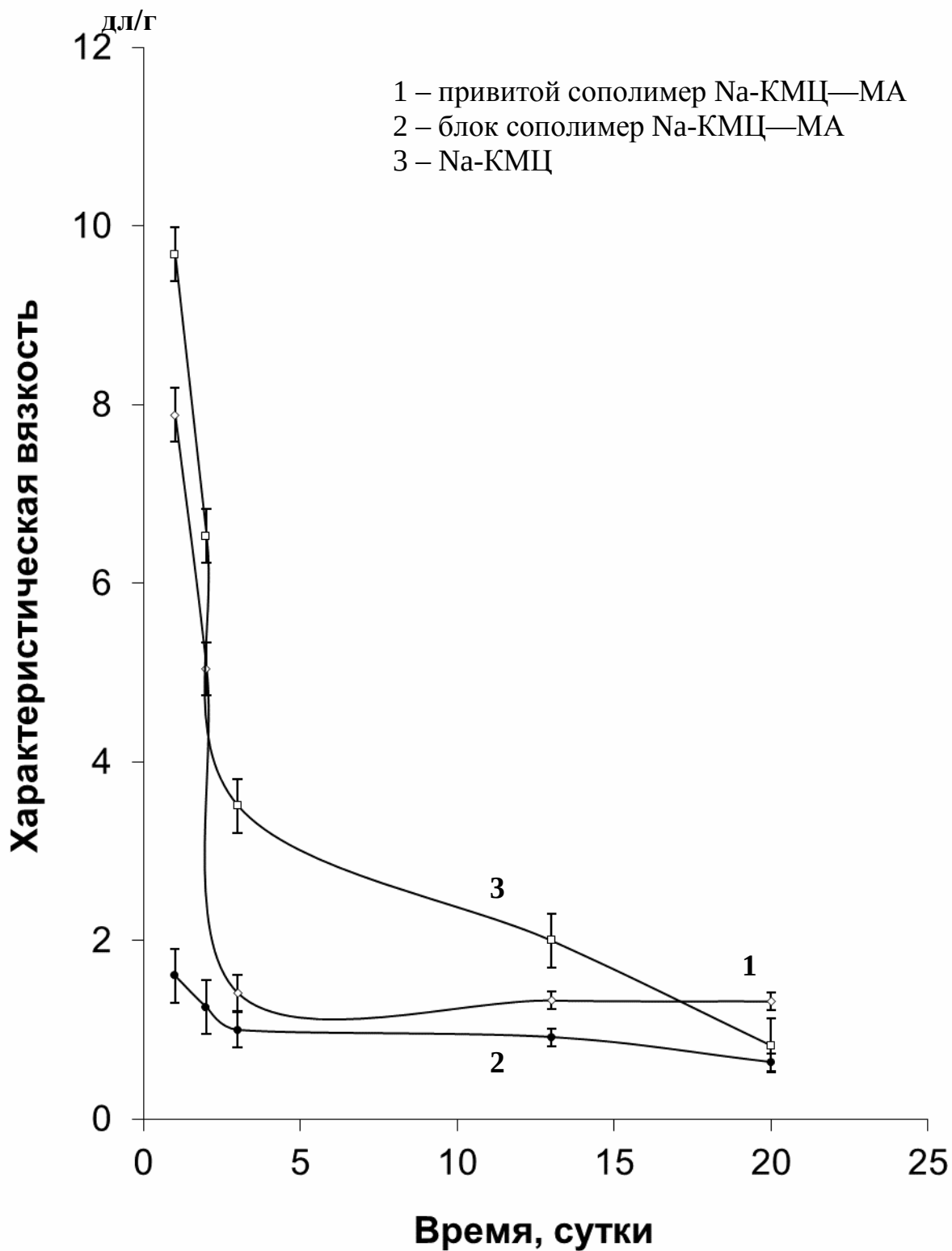


Рис. 3.3 Изменение характеристической вязкости полимеров на основе Na-КМЦ и МА под действием грибов-деструкторов

Результаты проведенных экспериментов позволяют нам определить подходы к регулированию механизмов биодеструкции материалов и, в конечном счете, изменять их биостойкость. Такими подходами могут быть:

а) регулирование молекулярной массы синтетических полимеров, входящих в состав полимерного материала;

б) введение специальных ингибиторов или активаторов экзоферментов микромицетов – активных деструкторов в состав композиционных материалов;

в) за счет полимераналогичных превращений, приводящих к введению в полимер функциональных групп, обладающих биозащитным эффектом;

г) введение в состав макромолекул (природных и синтетических), функциональных групп, обладающих биологической активностью (или активирующих, или ингибирующих активность экзоферментов микроскопических грибов, участвующих в деструктивном процессе.

3.2.5. Исследование устойчивости к действию микроскопических грибов полимерных материалов, подвергшихся воздействию абиотических факторов внешней среды

В литературном обзоре нами указывалось, что недостаточно внимания уделяется вопросу изучения взаимосвязи факторов старения (воздействия на полимерные материалы абиотических факторов внешней среды) и процесса биоповреждения. Поэтому для нас представляло интерес изучить роль и влияние климатических факторов на процесс деструкции различных полимеров микромицетами.

3.2.5.1. Изменение способности служить источником питания для микромицетов у ряда полимерных материалов, подвергшихся действию абиотических факторов внешней среды

Известно, что основными требованиями, предъявляемыми к методам испытаний по оценке устойчивости материалов к воздействию грибов, должны быть надежность метода, воспроизводимость полученных результатов, максимальная приближенность лабораторных испытаний к условиям природной биodeградации материалов грибами. Основная причина несовпадения результатов испытаний одних и тех же материалов на грибостойкость, проводимых в лабораторных и природных условиях, является неучёт процесса их старения.

Поэтому целью данного этапа работы было сравнительное изучение изменения грибостойкости ряда лакокрасочных покрытий (ЛКП) и полимерных материалов, ранее испытанных нами на грибостойкость в лабораторных условиях после воздействия на них факторов старения.

Испытания на грибостойкость проводились по ГОСТ 9.049-91 и ГОСТ 9.050-75 стандартным и модифицированным методами. Действие факторов климатического старения моделировалось в климатических камерах TSK-300 по методике искусственного старения, позволяющей симитировать период

эксплуатации материала до десяти лет. Результаты данного исследования представлены в таблицах 3.16, 3.17, 3.18.

Таблица 3.16

Изменение грибостойкости лакокрасочных материалов
(к ассоциативной культуре и отдельным видам грибов)

под действием факторов старения

Вид гриба	Степень обрастания в баллах по ГОСТ 9.050-75					
	Лак ФЛ-98			Эмаль МЛ-12		
	контроль	старение 3 года	старение 10 лет	контроль	старение 3 года	старение 10 лет
<i>Aspergillus terreus Thom</i>	3	3	3	3	4	4
<i>Aspergillus niger van Tieghem</i>	2	3	4	3	4	4
<i>Alternaria alternata (Fries) Keissler</i>	1	2	2	3	4	5
<i>Fusarium moniliforme Sheldon</i>	2	3	4	3	3	4
<i>Penicillium ochro-chloron Biourge</i>	2	3	4	2	4	4
<i>Penicillium chrysogenum Thom</i>	2	3	4	3	4	5
<i>Penicillium funiculosum Thom</i>	2	4	4	3	4	5
<i>Penicillium martensii Biourge</i>	3	3	4	3	3	4
<i>Penicillium brevi-compactum Dierckx.</i>	2	3	3	2	3	4
<i>Trichoderma viride Persoon</i>	2	3	3	3	3	5
ассоциативная культура	3	4	4	1	3	5

Таблица 3.17

Изменение грибостойкости клеев и герметиков

(к ассоциативной культуре и отдельным видам грибов) под действием факторов старения

Вид гриба	Степень обрастания в баллах по ГОСТ 9.049-75 (91)								
	Клей-мастика ГИПК-23-12			Компаунд ЭЗК-6			Герметик УТ-34		
	контроль	старение 3 года	старение 10 лет	контроль	старение 3 года	старение 10 лет	контроль	старение 3 года	старение 10 лет
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	2	3	3	0	0	0	3	3	3
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	1	2	2	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn.	1	2	2	0	0	0	0	2	2
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	1	2	2	1	1	1	0	0	0
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	1	2	2	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	0	2	2	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	2	2	2	0	0	0	0	0	0
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Trichoderma viride</i> Persoon	2	2	2	0	0	0	0	0	0
ассоциативная культура	2	2	2	0	0	0	0	0	0

Таблица 3.18

Изменение грибостойкости пластиков

(к ассоциативной культуре и отдельным видам грибов) под действием факторов старения

Вид гриба	Степень обрастания в баллах по ГОСТ 9.049-75 (91)					
	Пластик АБС-2020-31			СТЭФ-1		
	контроль	старение 3 года	старение 10 лет	контроль	старение 3 года	старение 10 лет
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	3	4	4	0	2	3
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	3	4	4	1	1	1
<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn.	3	4	4	0	2	4
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	3	3	3	0	2	3
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	3	3	4	1	2	3
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	3	4	4	0	3	3
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	3	3	3	0	1	1
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	3	4	4	1	1	1
<i>Trichoderma viride</i> Persoon	3	4	4	2	2	2
ассоциативная культура	3	3	4	0	2	3

Результаты исследования грибостойкости по стандартной методике (к ассоциативной культуре) показали, что в случае с ЛКП после 3 лет старения все испытание материалы становятся негрибостойкими, а после 10 лет старения эмаль МЛ-12 становится фактически биоутилизируемой (рост грибов оценивался в 5 баллов). Иная картина наблюдалась у полимеров – среди них имеются материалы как устойчивые к действию грибов-деструкторов даже после 10 лет старения (клей-мастика ГИПК-23-12, компаунд ЭЗК-6, герметик УТ-34), так и неустойчивые (стеклотекстолит СТЭФ-1 после 10 лет старения становится негрибостойким). Из полученных результатов следует, что факторы климатического старения по-разному меняют грибостойкость различных полимерных материалов.

Испытания модифицированным методом (к отдельным видам грибов) позволили выявить индивидуальное воздействие культур микромицетов на материал, подвергнутый действию старения. Для ЛКП наиболее сильным разрушающим действием характеризовались: *Aspergillus niger* (у лака ФЛ-98 грибостойкость при старении на 10 лет меняется с 2 до 4 баллов), *Alternaria alternata* (эмаль МЛ-12 при старении на 10 лет получает оценку 5 баллов), *Fusarium moniliforme*, *Penicillium ochro-chloron* (у обоих видов ЛКП после старения на 10 лет оценка грибостойкости меняется с 2 до 4 баллов), *Penicillium chrysogenum* (у эмали МЛ-12 после старения на 10 лет грибостойкость изменяется с 3 баллов до 5), *Penicillium funiculosum* (у эмали МЛ-12 после старения на 10 лет грибостойкость изменяется с 3 баллов до 5), *Trichoderma viride* (у эмали МЛ-12 после старения на 10 лет грибостойкость изменяется с 3 баллов до 5, тогда как при старении на 3 года она остаётся на уровне контроля – 3 балла). Для полимеров – *Aspergillus terreus* (у СТЭФ-1 после старения на 10 лет оценка грибостойкости изменяется от 0 до 3 баллов; грибостойкость клея-мастики ГИПК-23-12 меняется с 2 до 3 баллов), *Aspergillus oryzae* (у СТЭФ-1 после старения на 10 лет оценка грибостойкости изменяется от 0 до 4 баллов, а после 3 лет старения грибостойкость оценивалась в 2 балла), *Chaetomium globosum* (у СТЭФ-1

после старения на 10 лет оценка грибостойкости изменяется от 0 до 3 баллов), *Penicillium chrysogenum* (под его действием также изменяется оценка грибостойкости у СТЭФ-1 от 0 до 3 баллов; грибостойкость клея-мастики ГИПК-23-12 меняется от 0 до 2 баллов). Однако нами отмечено, что различные полимерные материалы, подвергнутые действию факторов старения, с неодинаковой степенью разрушаются микромицетами. Избирательность действия грибов на материалы может быть связана с физиолого-биохимическими особенностями данных грибов – наличием у них комплексов агрессивных метаболитов, способных поражать полимер, подвергнутый действию факторов старения.

Большое влияние на грибостойкость полимерных материалов оказывает наличие на них внешних загрязнений. В предыдущих экспериментах мы удаляли внешнее загрязнение с поверхности образцов полимеров. В этой серии экспериментов, которые проводились на полиамидах марки «ПА-6-211-ДС неокрашенный» и «ПА-6-211-ДС-КЭ окрашенный», с последних не удалялись внешние загрязнения. Предварительные испытания показали, что даже в этих условиях данные материалы являются грибостойкими и рост грибов на них по ГОСТ 9.049-91 оценивается в 1-2 балла. Далее эти материалы (без очистки от внешних загрязнений) подвергали различным срокам ускоренных климатических испытаний (УКИ), после чего вновь оценивали их грибостойкость. В циклы УКИ входило воздействие на полимерные материалы следующих факторов внешней среды: влажности, солнечной радиации, озона. Результаты исследований представлены в таблице 3.19.

Таблица 3.19

Изменение грибостойкости образцов полиамидов после проведения
ускоренных климатических испытаний

Образец полиамида	Количество циклов УКИ	Степень обрастания в баллах (метод 1)	Оценка грибостойкости по ГОСТ 9.049-91
ПА6-211-ДС	1	2	грибостойкий
	2	2	грибостойкий
	3	2	грибостойкий
	5	2	грибостойкий
	15	3	негрибостойкий
ПА6-211-ДС-КЭ	1	1	грибостойкий
	2	1	грибостойкий
	3	1	грибостойкий
	5	2	грибостойкий
	15	2	грибостойкий

Анализ результатов показывают, что ускоренные климатические испытания (количество их циклов) по-разному влияют на окрашенные и неокрашенные полиамиды. Так, ПА6-211-ДС после 15 циклов УКИ становится негрибостойким, однако УКИ практически не повлияли на грибостойкость полиамида ПА6-211-ДС-КЭ. Мы полагаем, что различное влияние циклов ускоренных климатических испытаний на грибостойкость исследованных образцов полиамидов связано с различием в их химическом составе.

Далее нами была исследована грибостойкость блок-сополимера хитозан : МА (1 : 2,5) к действию ассоциации грибов (по ГОСТ 9.049-91) и к действию отдельных культур микромицетов, – *Aspergillus niger* и *A. terreus*. Данные виды грибов наиболее часто разрушают различные полимерные материалы, т.е. являются их активными биодеструкторами (таблица 3.20).

Таблица 3.20

**Грибостойкость образцов блок-сополимера
хитозан : МА (1:1,3)**

Культуры микромицетов	Степень обрастания в баллах (метод 1)	Оценка грибостойкости образца по ГОСТ 9.049-91
ассоциация тест-культур грибов ГОСТ 9.049-91	4	негрибостойкий
<i>Aspergillus niger</i>	4	негрибостойкий
<i>A. terreus</i>	4	негрибостойкий

Результаты исследований показали, что данные композиции способны разрушаться микромицетами.

Далее нами проводились исследования ряда физических факторов на грибостойкость блок-сополимера хитозан : МА (1 : 2,5). Эксперименты проводились с культурой гриба *Aspergillus niger* одного из активных биодегрантов различных полимерных материалов (таблица 3.21).

Таблица 3.21

Влияние физических факторов на грибостойкость образцов блок-сополимера хитозан: МА (1 : 2,5) по отношению к *Aspergillus niger*

Фактор	Степень обрастания в баллах (метод 1)	Оценка грибостойкости образца по ГОСТ 9.049-91
Ультрафиолетовое облучение, (3 цикла облучения – 16.128 кВт/м ² за цикл)	5	негрибостойкий
Высокая температура, +55±2°C	5	негрибостойкий
Низкая температура, –10±3°C	5	негрибостойкий
Влажность, 100±10%	5	негрибостойкий
Контроль (без воздействия факторов)	4	негрибостойкий

В наших экспериментах все исследуемые нами факторы повышали степень биоразлагаемость композиции, – у исследованного нами полимера грибостойкость снижалась с 4 баллов до 5.

В процессе эксплуатации полимерные материалы подвергаются воздействию различных факторов окружающей среды, как климатических так и техногенных, что может приводить к изменению их свойств, а соответственно и изменению их способности к деструкции под действием микромицетов. На данном этапе работы было исследовано влияние следующих климатических факторов – ультрафиолетового облучения, температурного воздействия, влажности на физико-механические свойства модельной системы: «Пленочные материалы на основе блок-сополимеров хитозана с метилакрилатом до и после микробной деструкции». Результаты представлены в таблице 3.22.

Таблица 3.22

Физико-механические свойства модельной системы: «Пленочные материалы на основе блок-сополимеров хитозана с метилакрилатом до и после микробной деструкции»

Фактор	Воздействие фактора		Воздействие фактора и грибов	
	σ , МПа	ε , %	σ , МПа	ε , %
Ультрафиолетовое облучение	46.73	8.74	21.17	16.28
Влажность	39.28	9.74	29.45	14.17
Высокая температура	42.24	11.35	18.83	10.22
Низкая температура	40.90	7.10	21.54	8.58
Исходный блок-сополимер	39.15	6.33	39.15	6.33

$$p < 0,05, \quad U_{\text{тн}=4}=1, \quad U_{\text{он}=4}=1$$

Из таблицы видно, что при воздействии на пленки блок-сополимеров хитозана с метилакрилатом ультрафиолетового облучения и повышенной температуры происходит увеличение их прочности (σ) с 39 до 46 МПа и

деформации (ϵ) с 6 до 11%, в то время как при действии влажности и низкой температуры физико-механические свойства материала практически не изменяются. При воздействии на пленочные материалы, предварительно подвергшиеся воздействию климатических факторов, микромицетов *A. niger* и *A. terreus* во всех случаях наблюдается падение физико-механических свойств (разрушающего напряжения и деформации при разрыве), которое свидетельствует о биодegradации полимеров. Предварительная обработка полимеров повышенной температурой, способствует увеличению роста грибов на материале, и как следствие, наибольшему снижению его прочности до 18 МПа.

Таким образом, нами было убедительно показано, что под влиянием факторов старения грибостойкость полимерных материалов может меняться. Под воздействием факторов старения в полимерных материалах начинаются изменения химического состава и структуры. В зависимости от вида, интенсивности и длительности воздействия факторов старения полимерные материалы, претерпевая химические изменения, через некоторое время могут стать соединениями, отличающимися по химическому составу и структуре от исходных.

В работах ряда авторов показано, что процесс старения является важным фактором, способствующим накоплению низкомолекулярных фракций в полимерных материалах (Павлов, 1982). Таким образом, в определённый момент эти материалы (исходно грибостойкие) начинают подвергаться деструкции и использоваться в качестве источника питания определёнными видами грибов, располагающими соответствующим комплексом метаболитов.

В наших экспериментах в большинстве случаев имело место увеличение степени биоутилизации исследуемых материалов при воздействии факторов старения. Однако изменение грибостойкости материалов было неоднозначно. Можно выделить две группы материалов: первая группа – не изменяющие

(мало меняющие) грибостойкость при действии факторов старения (физических факторов) даже в течение длительных воздействий, имитирующих до 15 лет эксплуатации в естественных условиях; вторая группа – материалы способные в значительной степени уменьшать свои грибостойкие свойства, т.е. становиться более биоутилизируемыми, даже при очень непродолжительном воздействии факторов старения.

В данном случае мы видим еще один механизм регулирования биостойкости материалов. С одной стороны, это очень важно, чтобы прогнозировать интенсивность процесса биodeградации материалов под воздействием микромицетов в природных условиях, а с другой стороны, создавать материалы определенного химического состава, способные легко разлагаться микроорганизмами при их эксплуатации в естественных условиях. Но в этих случаях необходимо обратить внимание на тот факт, что слишком быстрая биоутилизация под воздействием старения не всегда приемлема и нужна. В этом случае, чтобы в определенной степени вызвать замедление влияния физических факторов на грибостойкость материалов, в их состав необходимо вводить определенные химические вещества – антистарители.

В процессе эксплуатации полимерные материалы подвергаются воздействию различных факторов окружающей среды, как климатических так и техногенных, что может приводить к изменению их свойств, а соответственно и изменению их способности к деструкции под действием микромицетов.

Проделанная работа позволяет сделать следующее заключение: для того, чтобы располагать более достоверной оценкой грибостойкости полимерных композиций, необходимо иметь результаты их испытаний в природных условиях эксплуатации. В лабораторных же методах испытаний в качестве обязательных следует предусмотреть исследование на грибостойкость полимерных композиций, предварительно подвергнутых действию факторов старения. Причём максимально объективные данные по

грибостойкости того или иного материала могут быть получены лишь при имитации периода эксплуатации данного материала в натуральных условиях в период не менее десяти лет.

3.2.5.2. Действие абиотических факторов внешней среды на биостойкость полимерных композиций с введёнными в их состав биоцидными присадками

В данной серии экспериментов предполагалось исследовать как, изменится биостойкость ряда материалов (краска масляная МА-15, краска водоэмульсионная ВД-КЧ 22, хирургические шовные нити), защищённых биоцидами при действии факторов старения (обоснованность проведения экспериментов, представленных в данном разделе, определяется представлениями о биоцидных присадках как об экологическом абиотическом факторе, способном тормозить деструкцию полимерных материалов микромицетами). В этой серии экспериментов в качестве биоцидных соединений использовались: сосновое масло; сукцинат хитозана; хлорид кобальта (II) и нитрат кобальта (II). Среди факторов старения нами исследовалось воздействие на образцы материалов ультрафиолета (УФ) (длина волны 280 н.м., интенсивность излучения 90 Вт/м²) и «Шокового термоудара», предусматривающего попеременное воздействие на материал высоких (+50°C) и низких (-15°C) температур, – данный метод воздействия был выбран в связи с тем, что он является гостированным показателем при испытаниях материалов на устойчивость к действию факторов внешней среды. В качестве контроля использовались полимерные композиции с введёнными в их состав биоцидами, не подвергшиеся действию факторов климатического старения. Результаты данной серии экспериментов представлены в таблицах 3.23 и 3.24.

Таблица 3.23

Изменение грибостойкости испытуемых образцов, под действием УФ

Образец	ассоциативная культура по ГОСТ 9.050-75, без <i>Trichoderma viride</i>	<i>Trichoderma viride</i> Persoon
краска МА-15 + сосновое масло 1% контроль	2	1
краска МА-15 + сосновое масло 1% опыт	3	3
10% сукцинат ХТЗ на нити контроль	3	3
10% сукцинат ХТЗ на нити опыт	1	2
краска ВД-КЧ 22 + хлорид СоII 1% контроль	2	2
краска ВД-КЧ 22 + хлорид СоII 1% опыт	3	3
краска ВД-КЧ 22 + нитрат СоII 1% контроль	2	2
краска ВД-КЧ 22 + нитрат СоII 1% опыт	2	2

Анализ результатов, представленных в таблице 3.23 показывает, что действие УФ на грибостойкость полимерных материалов с введёнными в них биоцидами неоднозначно. В большинстве случаев, по сравнению с контролем, в опытных вариантах имеет место снижение фунгицидной активности как по отношению к ассоциативной культуре, так и к *Trichoderma viride*. Однако, в варианте с водоземulsionной краской, защищённой нитратом кобальта (II) грибостойкость образца, подвергнутого воздействию УФ, не менялась; а в случае с хирургическими нитями, защищёнными

сукцинатом ХТЗ, наблюдалось повышение грибостойкости после воздействия УФ.

Воздействие «Шокового термоудара» в большинстве случаев приводило к ухудшению грибостойких свойств у всех опытных образцов, за исключением краски ВД-КЧ 22, защищенной нитратом кобальта (II), где грибостойкость не изменялась – таблица 3.24.

Таблица 3.24

Изменение грибостойкости испытуемых образцов,
под действием «Шокового термоудара»

Образец	ассоциативная культура по ГОСТ 9.050- 75, без <i>Trichoderma</i> <i>viride</i>	<i>Trichoderma viride</i> <i>Persoon</i>
краска МА-15 + сосновое масло 1% контроль	2	1
краска МА-15 + сосновое масло 1% опыт	3	3
10% сукцинат ХТЗ на нити контроль	3	3
10% сукцинат ХТЗ на нити опыт	5	5
краска ВД-КЧ 22 + хлорид СоII 1% контроль	2	2
краска ВД-КЧ 22 + хлорид СоII 1% опыт	3	3
краска ВД-КЧ 22 + нитрат СоII 1% контроль	2	2
краска ВД-КЧ 22 + нитрат СоII 1% опыт	2	2

3.2.5.3. Действие абиотических факторов внешней среды на биоцидную активность химических соединений, использованных нами в качестве средств защиты материалов от биоповреждений

Известно, что в процессе эксплуатации полимерные материалы, защищенные биоцидными присадками, подвергаются воздействию климатических факторов. Климатические факторы могут оказывать влияние на эффективность биоцидного действия используемых средств защиты. В связи с этим, нами были проведены эксперименты по исследованию действия ряда климатических факторов (температура, УФ-освещенность) на изменение фунгицидной активности следующих химических соединений: хлорид кобальта два, нитрат кобальта два, сукцинат ХТЗ, аскорбат ХТЗ, масло сосновое, масло пихтовое.

Фунгицидная активность определялась к ассоциативной культуре по ГОСТ 9.049-91 (без гриба *Trichoderma viride*) и отдельно к культуре *Trichoderma viride*, которая является антагонистом и может оказывать негативное действие на развитие других тест-культур. Проведенные исследования показывают, что аскорбат и сукцинат ХТЗ оказывают незначительное фунгицидное действие на ассоциативную культуру, а сукцинат ХТЗ действует и на *Trichoderma viride*; при действии всех изучаемых нами климатических факторов фунгицидные свойства у данных соединений пропадают (за исключением действия пониженной температуры на сукцинат ХТЗ по отношению к *Trichoderma viride*) (таблица 3.25).

Таблица 3.25

Изменение фунгицидной активности производных ХТЗ, подвергшихся воздействию климатических факторов

Образец	Радиус зоны ингибирования роста грибов, мм	
	ассоциативная культура по ГОСТ 9.049-91, без <i>Trichoderma viride</i>	<i>Trichoderma viride</i> Persoon
10% аскорбат ХТЗ	2	нет зоны
контроль		
+50° С		
-15° С		
УФ	нет зоны	нет зоны
10% сукцинат ХТЗ	2	3
контроль		
+50° С		
-15° С		
УФ	нет зоны	нет зоны

Производные терпеноидов также обладают фунгицидными свойствами по отношению к ассоциативной культуре и *Trichoderma viride*, причем фунгицидность соснового масла намного выше. Действие высокой и пониженной температур на оба вида масел не приводило к изменению их фунгицидных свойств по отношению к ассоциативной культуре, однако по отношению к *Trichoderma viride* наблюдалось снижение фунгицидных свойств у соснового масла и полное их исчезновение у пихтового. Действие УФ в целом не меняло фунгицидности вышеуказанных масел, однако у соснового масла при действии данного фактора наблюдалось увеличение фунгицидных свойств по отношению к культуре *Trichoderma viride* (таблица 3.26).

Таблица 3.26

Изменение фунгицидной активности производных терпеноидов,
подвергшихся воздействию климатических факторов

Образец	Радиус зоны ингибирования роста грибов, мм	
	ассоциативная культура по ГОСТ 9.049-91, без <i>Trichoderma viride</i>	<i>Trichoderma viride</i> <i>Persoon</i>
пихтовое масло		
контроль	2	1
+50° С	2	нет зоны
-15° С	2	нет зоны
УФ	4	4
сосновое масло		
контроль	20	15
+50° С	22	12
-15° С	22	12
УФ	20	35

Соединения кобальта характеризуются сравнительно небольшой фунгицидной активностью по отношению к ассоциативной культуре и высоким фунгицидным действием на *Trichoderma viride*, действие высокой и пониженной температур приводит к снижению фунгицидной активности данных соединений по отношению к ассоциативной культуре; а к культуре *Trichoderma viride* у хлорида кобальта два фунгицидные свойства не изменяются, а у нитрата кобальта два при действии пониженной температуры они даже увеличиваются. Действие УФ не меняет фунгицидных свойств у обоих веществ по отношению к ассоциативной культуре, а в случае *Trichoderma viride* приводит к их ухудшению (таблица 3.27).

Таблица 3.27

Изменение фунгицидной активности соединений кобальта, подвергшихся воздействию климатических факторов

Образец	Радиус зоны ингибирования роста грибов, мм	
	ассоциативная культура по ГОСТ 9.049-91, без <i>Trichoderma viride</i>	<i>Trichoderma viride</i> Persoon
хлорид Со II		
контроль	5	35
+50° С	2	30
-15° С	1	35
УФ	4	20
нитрат Со II		
контроль	4	25
+50° С	3	22
-15° С	2	30
УФ	4	20

Таким образом, нами было показано, что фунгицидная активность всех изученных биоцидных соединений под действием климатических факторов меняется по-разному – или снижается или увеличивается.

Представляло интерес сравнить действие факторов климатического старения на чистые вещества с биоцидной активностью и биоциды, введенные в состав полимерных композиций. Как отмечалось нами выше, наибольшее действие на биоцидную активность проявляет УФ. В экспериментах с полимерными композициями действие УФ приводило к снижению фунгицидной активности соснового масла и хлорида кобальта (II); тогда как действие УФ на сосновое масло в чистом виде повышало его фунгицидные свойства по отношению к грибу *Trichoderma viride* и снижало фунгицидное действие сукцината ХТЗ.

Было показано, что введение в состав полимерных композиций сукцината ХТЗ и хлорида кобальта (II) не придавало им грибостойких свойств, но у сукцината ХТЗ имело место появление фунгицидного эффекта после облучения ультрафиолетом. Несовпадение результатов по биоцидной активности изученных нами веществ в чистом виде и в составе полимерных

композиций может быть связано с тем, что под действием УФ происходят изменения самих полимеров, и химические продукты этих изменений могут взаимодействовать с биоцидами и менять их активность.

Действие «Шокового термоудара» на биоцидную активность веществ, введённых нами в состав полимеров было негативным и приводило к снижению их биостойкости, также как и для биоцидов, изученных нами в чистом виде (исключение составляло лишь сосновое масло). Таким образом, действие температур на биоцидную активность изученных нами соединений в чистом виде сходным образом изменяет их активность как и при воздействии «Шокового термоудара» на биоциды при введении их в состав полимерных композиций.

3.2.5.4. Изучение влияния ряда абиотических факторов внешней среды на микромицеты – деструкторы полимерных материалов

На первом этапе данной работы нами было изучено действие факторов старения непосредственно на сами полимерные материалы. Однако не меньший интерес представляет вопрос о действии климатических факторов на жизнедеятельность самих микромицетов-деструкторов. Поэтому на данном этапе работы нами изучалось влияние таких факторов как температура и влажность на способность плесневых грибов расти на различных субстратах (агаризованной среде Чапека-Докса и полимерном материале).

Известно, что температура является крайне важным фактором, лимитирующим жизнедеятельность микроскопических плесневых грибов. Это предположение подтверждают данные следующего эксперимента, где изучалось, как изменение температуры при культивировании грибов на твёрдой питательной среде Чапека-Докса будет влиять на их рост. Для определения линейного роста грибов измеряли диаметр их колоний. Объектами исследования были культуры микромицетов *Aspergillus oryzae* и *Raecilomyces variotii*, известные из наших предыдущих экспериментов

как активные деструкторы сополимеров крахмала и полиметилакрилата. Измерение линейного роста колоний проводилось на седьмые сутки культивирования. Степень сдерживания роста определялась в процентах по формуле Эбота, контролем являлись результаты, полученные при выращивании микромицетов при температуре 30° С, известной как оптимальная для данных видов грибов (Лугаускас и др., 1987). Результаты эксперимента представлены в таблице 3.28.

Таблица 3.28

Действие температуры на рост грибов – активных деструкторов
полимерных материалов

<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn.		<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	
температура	ингибирование роста, %	температура	ингибирование роста, %
28° С	14.0	28° С	15.0
30° С	0.0	30° С	0.0
32° С	5.0	32° С	2.0
35° С	6.0	35° С	8.0
40° С	21.0	40° С	8.0
45° С	59.0	45° С	59.0
46° С	97.0	47° С	59.0
47° С	100.0	49° С	85.0
50° С	100.0	50° С	100.0

Анализ результатов показывает, что снижение температуры до 28° С приводит к достаточно существенному сдерживанию роста обоих грибов – до 15%; тогда как повышение температуры до 35° С сдерживает рост не так значительно – на 6% у *Aspergillus oryzae* и на 8% у *Paecilomyces variotii*. Однако при повышении температуры картина меняется — культура *Paecilomyces variotii* проявляет себя как более термофильная. При температуре 40° С рост *Aspergillus oryzae* сдерживается на 21%, а у *Paecilomyces variotii* сдерживание остаётся на уровне 8%. При повышении температуры до 46° С рост культуры *Aspergillus oryzae* сдерживается уже на

97%, а *Paecilomyces variotii* только на 59%. При температуре 47° С культура *Aspergillus oryzae* полностью прекращает рост, тогда как у *Paecilomyces variotii* даже при температуре 49° С рост сдерживается только на 85% и лишь при температуре 50° С данная культура прекращает свой рост. Результаты этого эксперимента позволяют утверждать, что температурные оптимумы, рекомендованные для данных микромицетов ГОСТами (28±2° С) недостаточно верны. Особенно этот момент следует учитывать при испытаниях на фунгицидность, где рост грибов оценивается на поверхности агаризованной среды Чапека-Докса.

Кроме того, нами также изучалось влияние температуры и влажности на рост грибов на конкретной полимерной композиции. Испытания проводились по стандартному методу ГОСТа 9.049-91 на привитом сополимере акрилонитрила на хитозан (ХТЗ + ДАК + 7 мл. АН), ранее уже испытывавшегося нами на грибостойкость и зарекомендовавшего себя как негрибостойкий материал. Грибостойкость оценивалась при повышенных по сравнению с нормой величинах температуры и пониженной влажности.

Результаты опыта представлены в таблице 3.29. Результаты показывают, что повышение температуры до 35° С снижает поражающую способность у всех исследованных микромицетов, однако в наименьшей степени это относится к представителям рода *Aspergillus*, а в наибольшей к роду *Penicillium* и культурам *Aureobasidium pullulans* и *Alternaria alternata*. При повышении температуры до 50° С рост грибов не наблюдался ни в одном случае. Снижение влажности до 75% также приводило к ухудшению поражающей способности микромицетов, особенно у культуры *Penicillium ochro-chloron*. Однако у культур *Aspergillus terreus*, *Aureobasidium pullulans*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium brevi-compactum* оценка грибостойкости, полученная в данных условиях по сравнению с контролем не изменялась. Полученные результаты позволяют сделать вывод,

что условия жизни микроскопических грибов будут влиять на их способность поражать материалы.

Следует отметить, что все представленные грибы являются мезофильными — оптимум их развития лежит между 24 и 28° С, за исключением *Aspergillus niger*, который является термотолерантным грибом, — поэтому при температуре 35° С его негативное воздействие увеличивается. При температуре 50° С рост грибов не наблюдался, следовательно, данные условия являются для них неблагоприятными. Также необходимо отметить, что при повышении температуры до 35° С рост грибов *Aureobasidium pullulans*, *Alternaria alternata*, *Chaetomium globosum*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium brevi-compactum*, *Scopulariopsis brevicaulis* оценивался на 0 баллов, на наш взгляд, это может быть связано с тем, что данная температура могла оказать определённое воздействие на химический состав полимера и привести к возникновению компонентов, оказывающих негативное химическое воздействие на вышеуказанные виды грибов. В пользу данного предположения свидетельствуют данные представленные в таблице 3.28, где степень ингибирования роста грибов *Aspergillus oryzae* и *Paecilomyces variotii* при 35° С составила 6 и 8% соответственно.

Т.о. изменение температуры в пределах от 30 до 50° С существенно снижает возможность использования полимерных материалов грибами в качестве источников питания, за исключением гриба *Aspergillus niger*, у которого повышение температуры до 35° С активизирует рост. Снижение уровня влажности до 75% также подавляет жизнедеятельность грибов, но в меньшей степени чем температура.

Анализируя все материалы экспериментов данного раздела нашей работы можно предложить обобщенную схему взаимосвязи факторов, определяющих биостойкость полимерных материалов в естественных условиях их эксплуатации (см. рис. 3.4).

Таблица 3.29

Воздействие температуры и влажности на способность микроскопических грибов использовать полимерный материал в качестве субстрата

Вид гриба	Степень обрастания в баллах			
	ХТЗ + ДАК + 7 мл АН (50° С)			
	контроль: температура 30°С, влажность 98%	температура 35° С, влажность 98%	температура 50° С, влажность 98%	температура 30°С, влажность 75%
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	3	3	0	3
<i>Aspergillus amstelodami</i> (Mangin) Thom et Church	4	3	0	3
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	2	3	0	1
<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn.	4	2	0	3
<i>Aureobasidium pullulans</i> (Bubak) W. B. Cooke	3	0	0	3
<i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler	3	0	0	2
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	2	0	0	1
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon	2	0	0	2
<i>Penicillium ochro-chloron</i> Biourge	5	1	0	3
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	3	0	0	2
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	2	0	0	2
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	2	0	0	1
<i>Penicillium brevi-compactum</i> Dierckx	3	0	0	3
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	2	1	0	1
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Saccardo) Bainier	2	0	0	1
<i>Trichoderma viride</i> Persoon	3	1	0	2

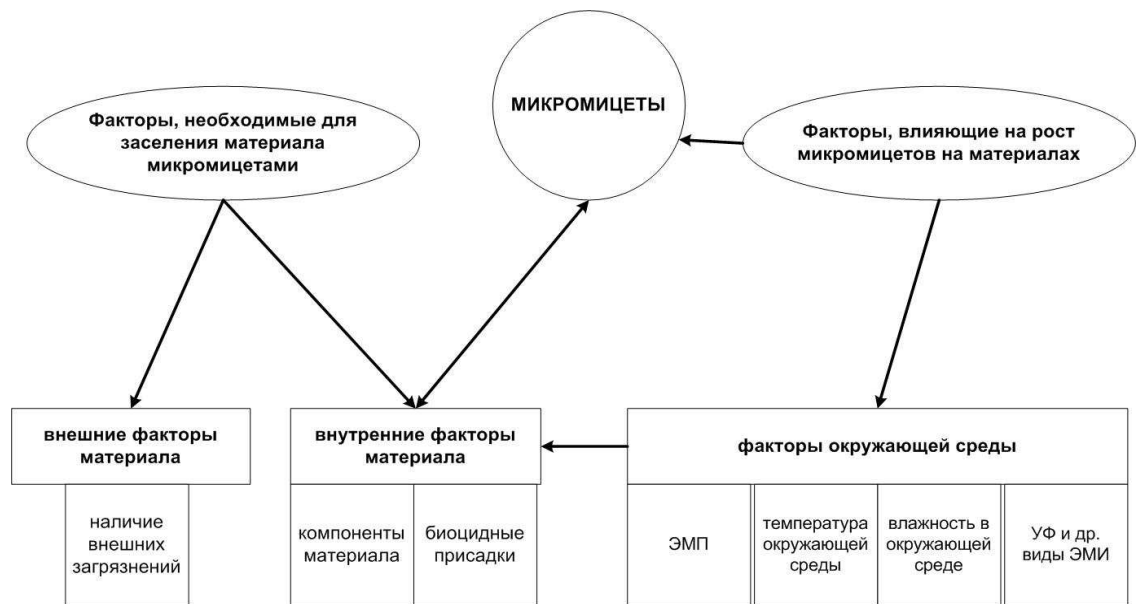


Рис. 3.4 Факторы, определяющие биостойкость полимерного материала в естественных условиях эксплуатации и взаимосвязь между ними

3.2.6. Исследование роли ряда экзогидролаз микромицетов в процессе деструкции полимерных композиций на основе природных и синтетических полимеров

Известно, что степень разрушительного воздействия микромицетов определяется различными факторами. Поражение материалов наиболее интенсивно идет при повышенной влажности, относительно высоких температурах, обилии пыли и загрязнений органической природы. При благоприятных для развития микромицетов условиях разрушительные процессы начинаются с переноса их на поверхность материалов, адсорбции, образования и роста микроколоний за счет разрастания гифов и спор, сопровождающегося выделением продуктов метаболизма, их накоплением и биоповреждающим действием. Высокая деструктирующая активность микроскопических грибов обусловлена, прежде всего, наличием у них хорошо развитого и мобильного ферментного комплекса (Покровская и др., 2006).

Проведённые нами ранее эксперименты показали, что при поражении полимерного материала микроскопическим грибом имеет место процесс его деструкции (изменения физико-механических свойств). Поэтому на данном этапе работы представляло интерес изучить физиолого-биохимические механизмы процесса деструкции полимерных материалов микромицетами.

3.2.6.1. Исследование деструкции хитина микроскопическими грибами

Известно, что хитин является N-ацетил-D-глюкозамином и находит самое широкое применение в различных областях деятельности человека (Феофилова, 1984). Хитин также может использоваться и в полимерных композициях, при этом сохраняется проблема регулирования их биостойкости.

Поэтому в дальнейших опытах на первом этапе была поставлена цель – выявить грибы – активные деструкторы хитина, для этого исследовалась

скорость роста грибов на хитине, оцениваемая по изменению площади колоний грибов (определяемой по формуле πR^2 , где R – радиус колонии), растущих на исследуемом субстрате. В качестве тест-культур использовались виды грибов – активных деструкторов природных и синтетических материалов, а также выделенные ранее из природных источников культуры *Raecilomyces sp. НУ-10* и *Penicillium sp. НУ-12*. Результаты исследований показали, что грибы *Raecilomyces sp. НУ-10* и *Penicillium sp. НУ-12* являются наиболее активными деструкторами хитина из всех изучавшихся (рис. 3.5).

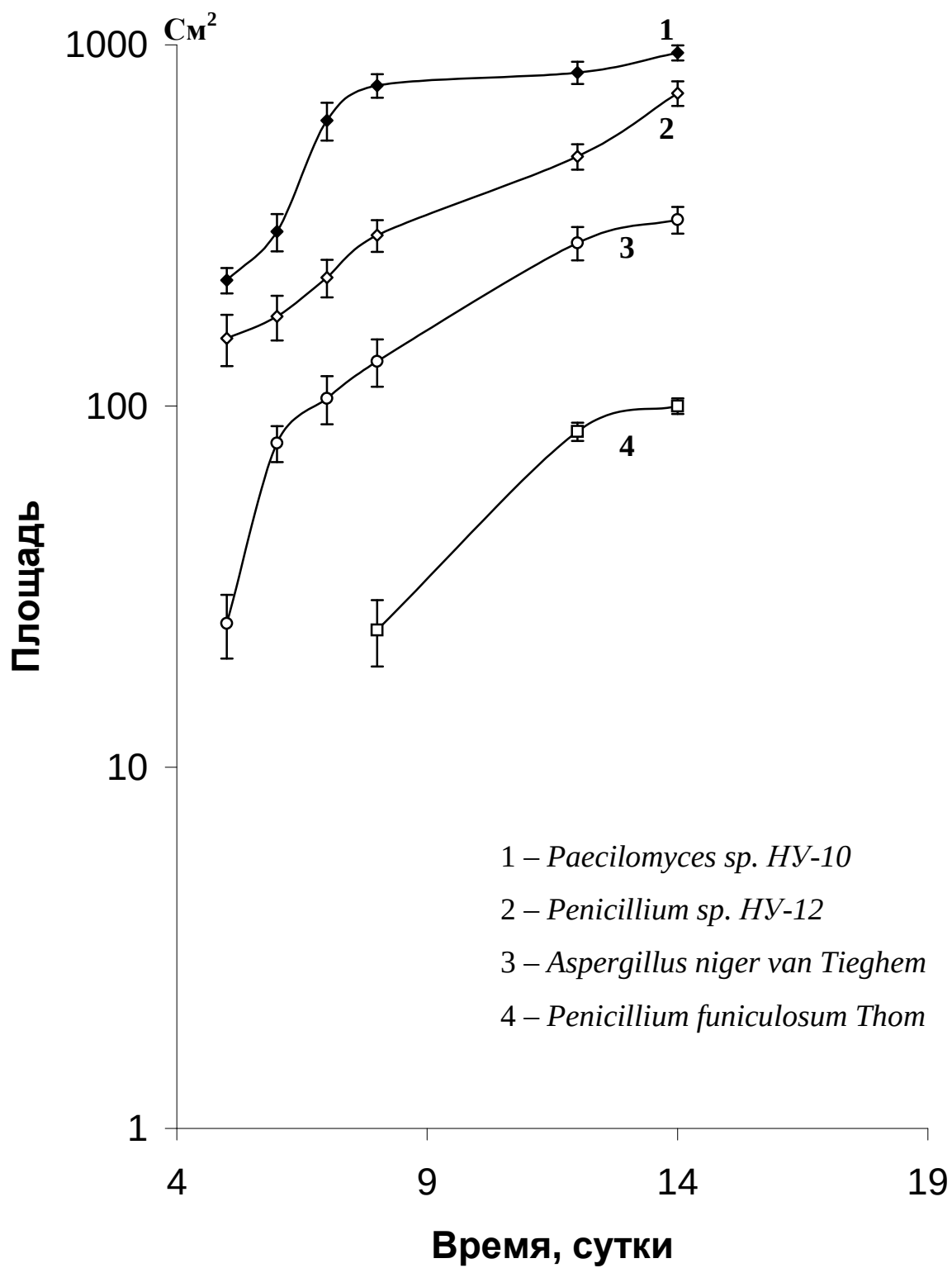


Рис. 3.5. Радиальная скорость роста колоний микромицетов на питательной среде с хитином

Далее исследовался процесс разрушения хитина вышеуказанными грибами в динамике в течение шестидесяти суток на жидкой обеднённой питательной среде (ОПС) Чапека – Докса с добавлением 10 гр. хитина на 1 л. среды. Результаты данного эксперимента представлены на рисунках 3.6 и 3.7. Кривая роста характеризуется наличием двух пиков содержания редуцирующих сахаров, что характерно для диауксического роста микроорганизмов на нескольких углеродсодержащих субстратах (в данном случае на сахарозе и хитине). Согласно общепринятой схеме, сначала усваивается более доступный субстрат (сахароза), а потом менее доступный (хитин). Результаты показывают, что утилизация сахарозы осуществляется обоими грибами с одинаковой скоростью и заканчивается к 10-м суткам культивирования, далее следует адаптационная фаза до 35-х суток, после чего отмечается увеличение количества редуцирующих сахаров, что свидетельствует об утилизации второго углеродсодержащего субстрата – хитина, посредством гидролиза его грибными экзохитиназами. Следует отметить, что интенсивность деструкции хитина была более высокой у *Raecilomyces sp. НУ-10*: увеличение количества редуцирующих сахаров у данной культуры происходило по экспоненте, тогда как в случае *Penicillium sp. НУ-12* наблюдался линейный прирост.

Также представляло интерес изучить возможность деструкции хитина в присутствии его в среде в качестве единственного источника углерода. Результаты показали, что оба гриба способны использовать хитин как единственный источник углерода (рис. 3.8, 3.9), однако сравнение рис. 3.8 и 3.9 с рис. 3.6 и 3.7 показывает, что обе культуры характеризуются периодом адаптации в сорок суток. *Penicillium sp. НУ-12* на безсахарозной среде характеризуется линейным ростом и более высокими количествами редуцирующих сахаров, количество которых стабилизируется на 65-е сутки. Тогда как увеличение редуцирующих сахаров у *Raecilomyces sp. НУ-10* идёт не так значительно.

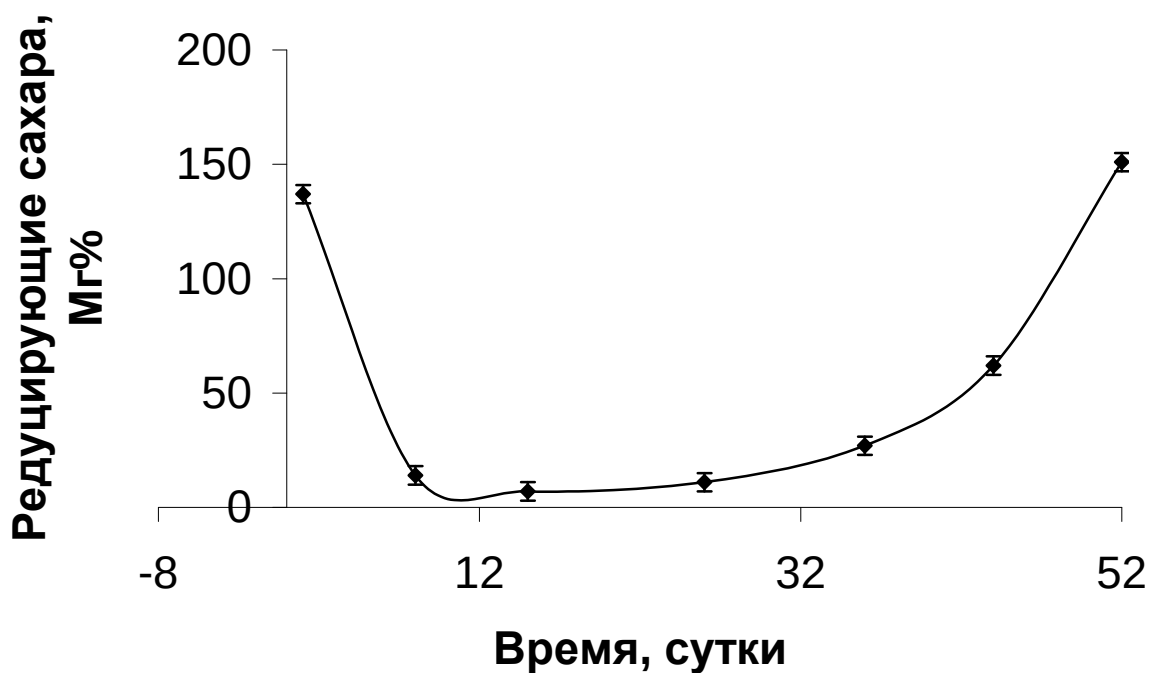


Рис. 3.6. Содержание редуцирующих сахаров в культуральной жидкости при росте гриба *Paecilomyces sp. НУ-10* на обеднённой питательной среде Чапека – Докса с добавлением хитина

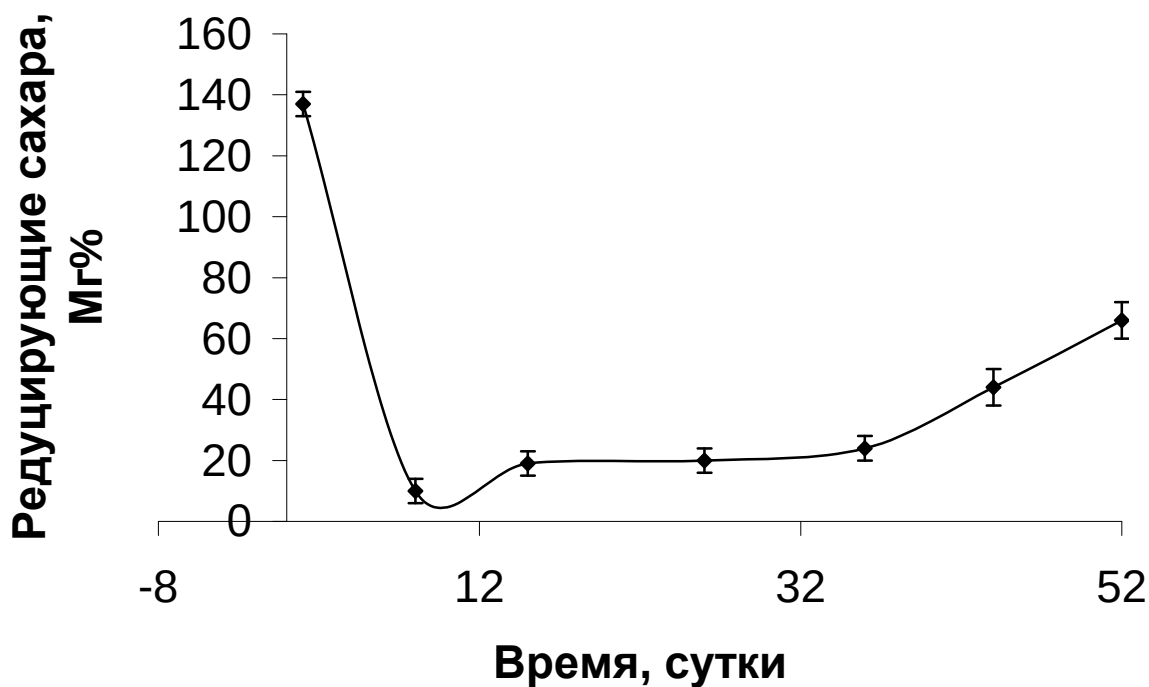


Рис. 3.7. Содержание редуцирующих сахаров в культуральной жидкости при росте гриба *Penicillium sp. НУ-12* на обеднённой питательной среде Чапека – Докса с добавлением хитина

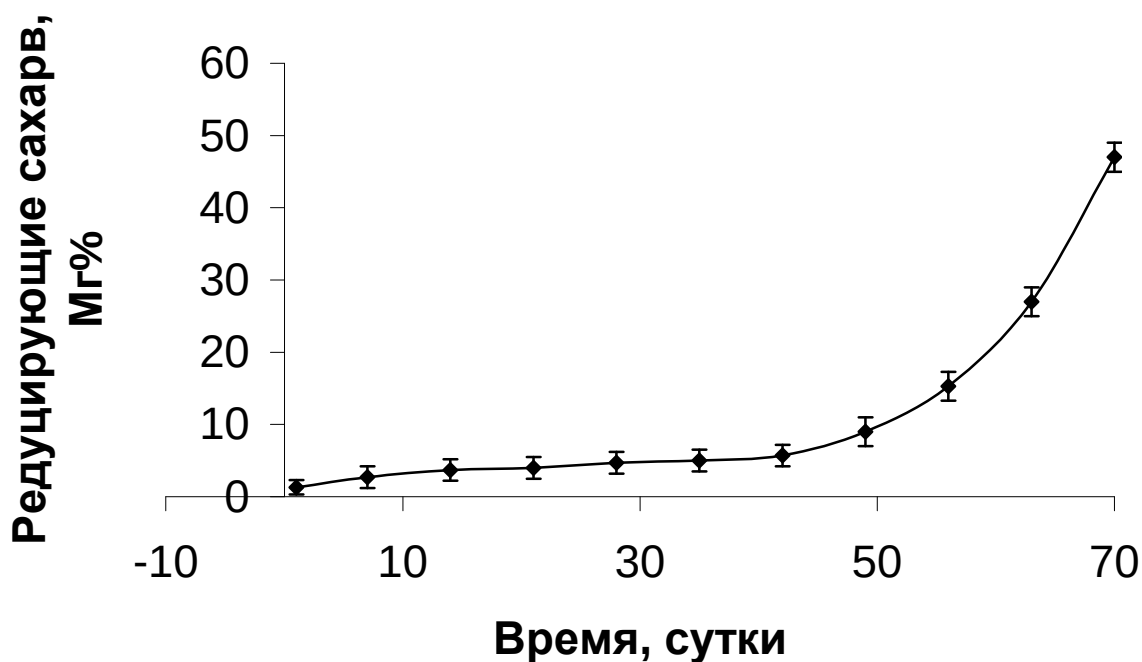


Рис. 3.8. Содержание редуцирующих сахаров в культуральной жидкости при росте гриба *Paecilomyces sp. NY-10* на минеральной питательной среде Чапека – Докса с добавлением хитина

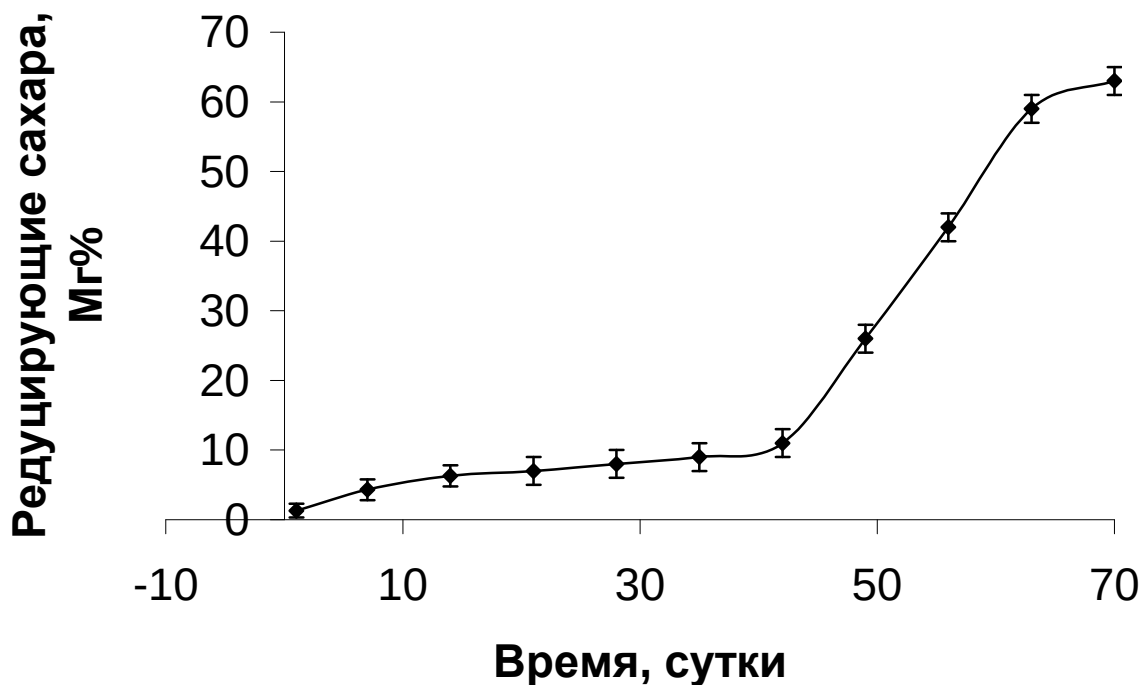


Рис. 3.9. Содержание редуцирующих сахаров в культуральной жидкости при росте гриба *Penicillium sp. NY-12* на минеральной питательной среде Чапека – Докса с добавлением хитина

Полученные результаты позволяют сделать предположение о том, что при утилизации сахарозы грибом *Raecilomyces sp. НУ-10* возможно образуются ряд продуктов метаболизма, которые вызывают химическую трансформацию хитина с помощью хитиназ, что облегчает его последующую утилизацию. Однако более вероятен, с нашей точки зрения, следующий механизм — сахароза или продукты её метаболизма грибом способны выступать в качестве индукторов экзоферментного хитинолитического комплекса. Чтобы подтвердить это предположение был поставлен следующий эксперимент, в ходе которого вышеуказанные грибы, выращиваемые на полной питательной среде (ППС) Чапека – Докса 7 суток, затем переносились на безсахарозную среду Чапека – Докса с добавлением 20 гр. хитина на 1 л. среды. Результаты опыта (рис. 3.10, 3.11) показали, что для *Raecilomyces sp. НУ-10* характерен постоянный, с первых суток культивирования, устойчивый рост количества редуцирующих сахаров в КЖ, на 15-е сутки переходящий от линейного к экспоненциальному. Тогда как прирост редуцирующих сахаров у *Penicillium sp. НУ-12* характеризуется длительным, до 20-х, суток периодом адаптации с последующим линейным ростом количества редуцирующих сахаров. Данные результаты подтверждают предположение о том, что в процессе утилизации сахарозы имеет место индукция экзоферментного хитинолитического комплекса для культуры *Raecilomyces sp. НУ-10*.

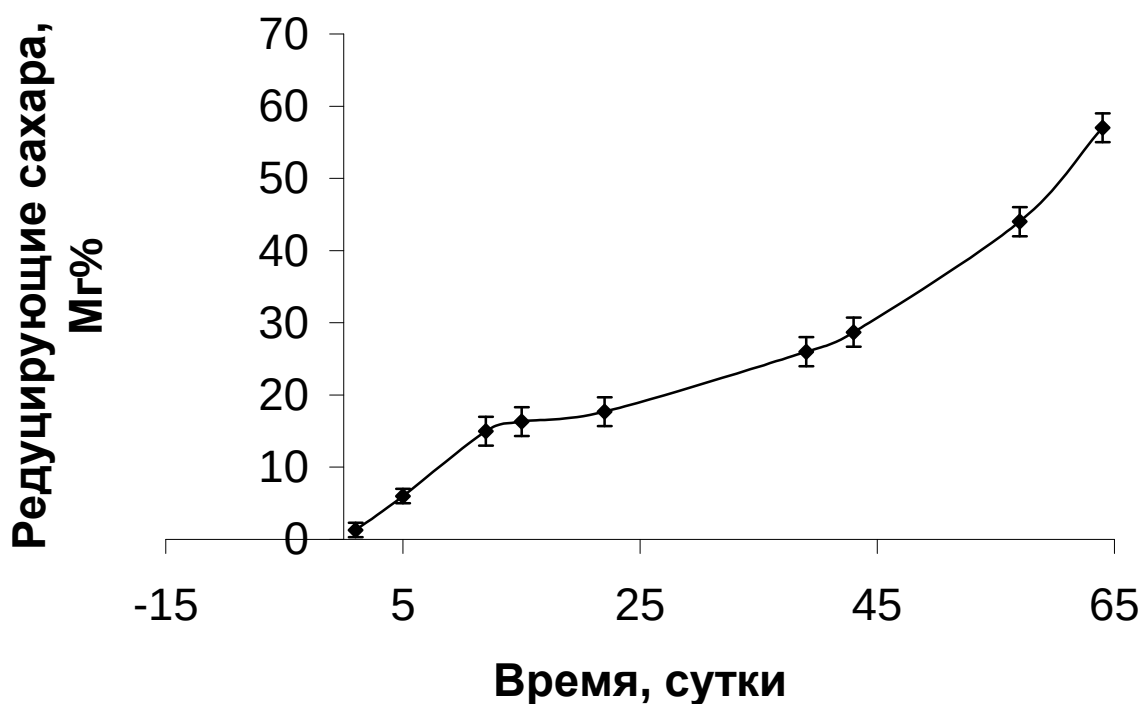


Рис. 3.10. Содержание редуцирующих сахаров в культуральной жидкости гриба *Paecilomyces* sp. NY-10, пересаженного с полной питательной среды Чапека – Докса на безсахарозную среду при деструкции им хитина

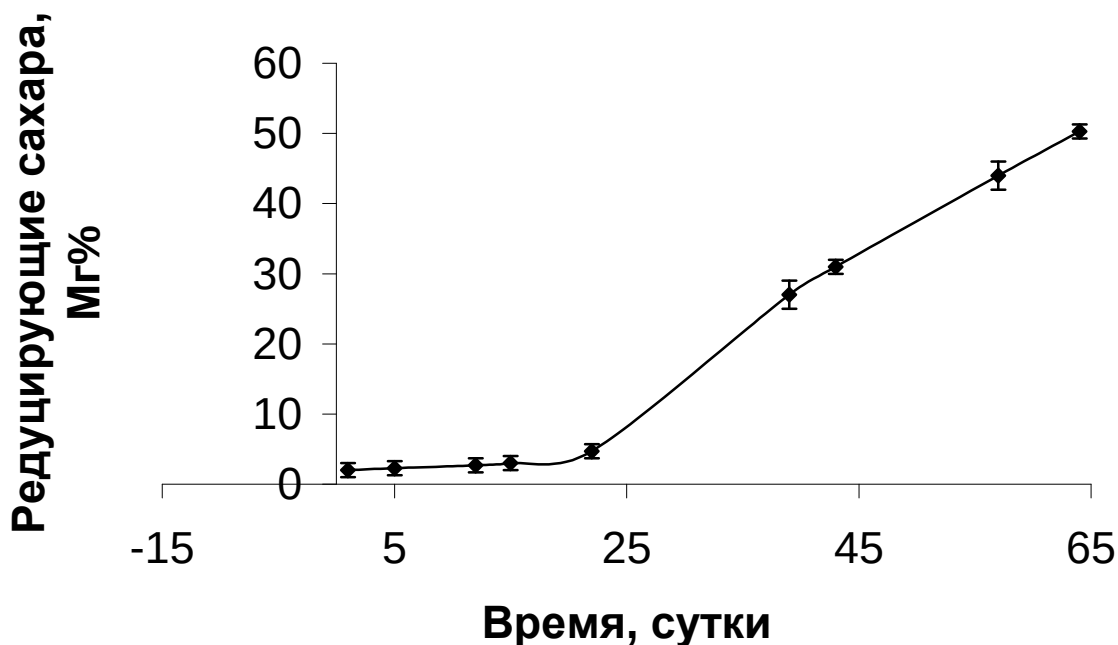


Рис. 3.11. Содержание редуцирующих сахаров в культуральной жидкости гриба *Penicillium* sp. NY-12, пересаженного с полной питательной среды Чапека – Докса на безсахарозную среду при деструкции им хитина

3.2.6.2. Исследование деструкции хитозана микроскопическими грибами

На данном этапе нашей работы изучалась деструкция хитозана (ХТЗ) в динамике культурами грибов *Raecilomyces sp. НУ-10* и *Penicillium sp. НУ-12*. Это особенно важно для разработки технологий связанных с биоутилизацией и биоповреждением ХТЗ микромицетами. Динамика разрушения ХТЗ исследовалась по изменению молекулярной массы. Результаты представлены на рисунке 3.12. Результаты данных опытов показывают практически полное разрушение ХТЗ до мономеров в течение 10 суток в случае с *Raecilomyces sp. НУ-10*. В случае с *Penicillium sp. НУ-12* молекулярная масса ХТЗ на 10-е сутки уменьшалась до 533 Да (т.е. на 99,4 %), в то время как в контроле молекулярная масса снизилась до 93000 Да (т.е. на 28,5%).

Наличие процесса деструкции ХТЗ грибами характеризуют также данные по содержанию количества редуцирующих сахаров в культуральной жидкости (КЖ) грибов *Raecilomyces sp. НУ-10* и *Penicillium sp. НУ-12* в процессе их роста на вышеуказанном субстрате (рис. 3.13). Полученные данные свидетельствуют о том, что рост обоих грибов приводит к накоплению в КЖ редуцирующих сахаров, что связано, вероятно, с работой грибных хитозаназ. Однако более интенсивно процесс деструкции осуществляет *Raecilomyces sp. НУ-10*, так как рост данной культуры приводит к более высокому накоплению редуцирующих сахаров, а также к более интенсивному процессу деструкции ХТЗ на начальных этапах культивирования (например, на десятые сутки культивирования содержание редуцирующих сахаров составляло 408 Мг% для *Raecilomyces sp. НУ-10* и 230 Мг% для *Penicillium sp. НУ-12*.

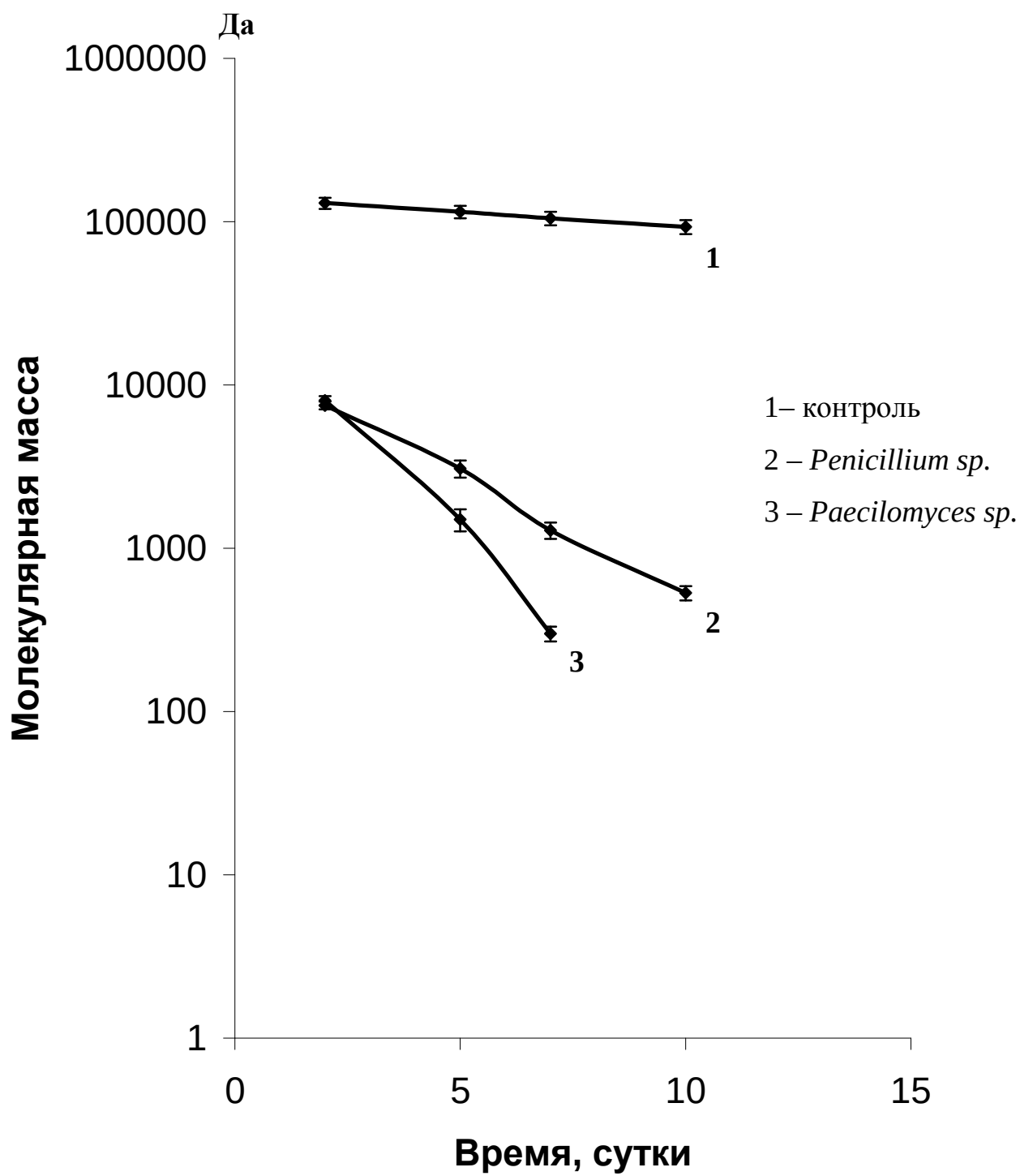


Рис. 3.12. Изменение молекулярной массы хитозана под действием грибов *Paecilomyces sp.* НУ-10 и *Penicillium sp.* НУ-12

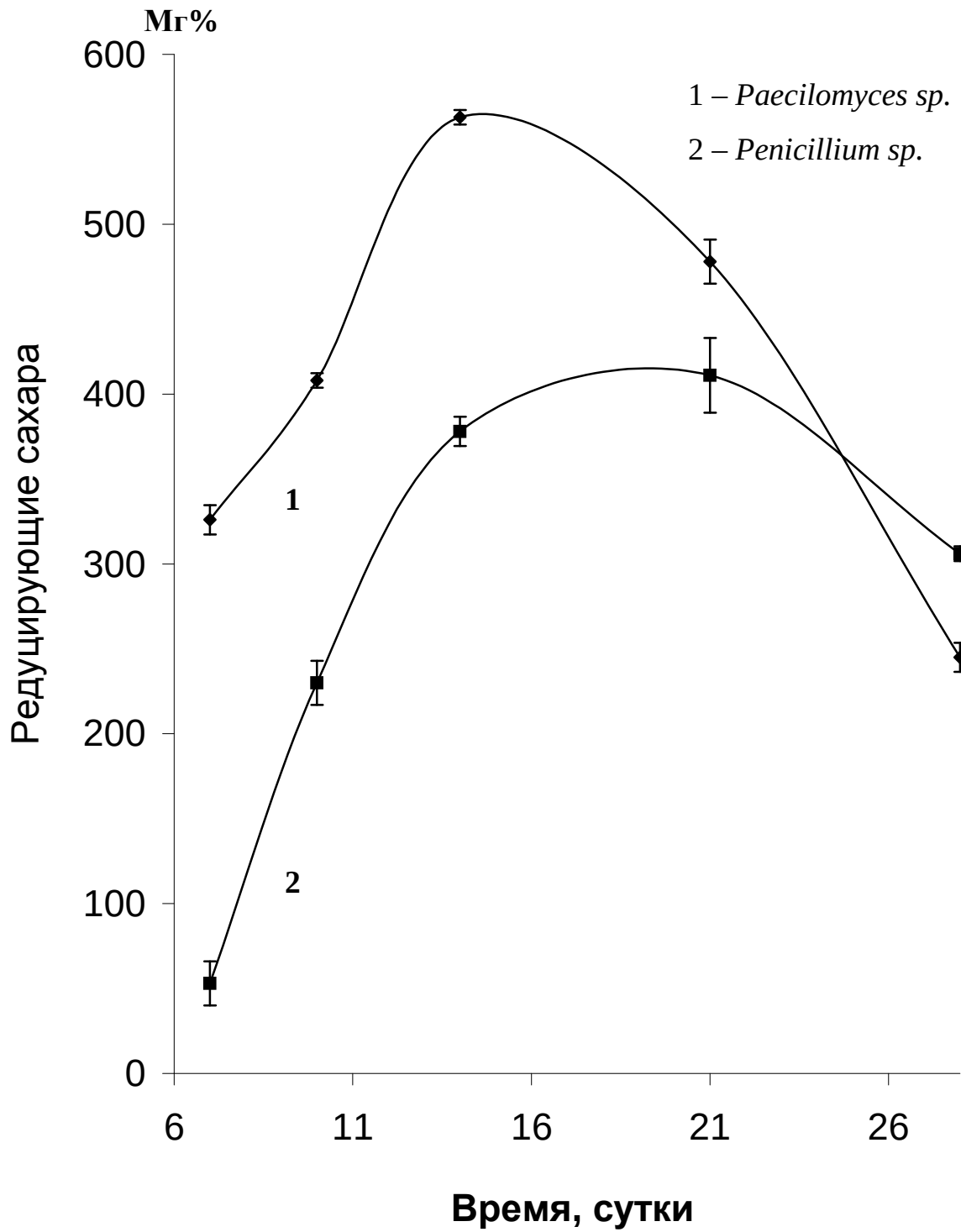


Рис. 3.13. Содержание редуцирующих сахаров в культуральной жидкости грибов *Paecilomyces* sp. НУ-10 и *Penicillium* sp. НУ-12 при их росте на хитозане

3.2.6.3. Исследование амилазной и эстеразной активности у грибов – деструкторов сополимеров крахмала и полиметилакрилата

Ранее нами были созданы биоразлагаемые пленки на основе крахмала и полиметилакрилата. Были установлены активные грибы-деструкторы данных пленок, которые в качестве питательного субстрата использовали и природный полимер крахмал: *Aspergillus oryzae* и *Paecilomyces variotii*. В связи с этим целью данного этапа работы являлось изучение амилолитической активности плесневых грибов – активных деструкторов сополимеров крахмала и полиметилакрилата. Объектами исследования являлись выявленные нами активные деструкторы данного сополимера. В качестве контроля аналогичные исследования проводились для грибов – активных деструкторов крахмала: *Aspergillus niger* и *Penicillium cyclopium*. Активность амилаз определялась в культуральной жидкости. Грибы выращивались на обедненной жидкой питательной среде Чапека (ОПС) с добавкой крахмала (7 г. крахмала на 1 л. среды), определение проводилось 14 сутки культивирования.

Результаты эксперимента представлены на рисунке 3.14. Результаты показывают, что экзоамилазы имеются у всех исследованных нами грибов, причём экзоамилазная активность у культур *Aspergillus oryzae* и *Paecilomyces variotii*, растущих на сополимере была более низкой (в особенности у *Paecilomyces variotii*) чем у культур, растущих на чистом крахмале.

Известно, что амилаза существует в виде трех изоформ: α -, β - и γ -амилазы. Поэтому на втором этапе эксперимента представляло интерес изучить роль отдельных изоформ экзоамилаз данных видов грибов в процессе деструкции крахмала. Для чего была поставлена следующая серия экспериментов — грибы выращивались на ОПС с затравкой крахмала с последующей инактивацией двух из трех существующих изоформ при помощи специфических ингибиторов и определением α -, β - и γ -амилазной активности по отдельности (рис. 3.15). Анализ результатов показывает, что у всех видов грибов имеются все три изоформы амилаз и соотношение

амилазной активности, наблюдавшееся между культурами грибов ранее сохраняется.

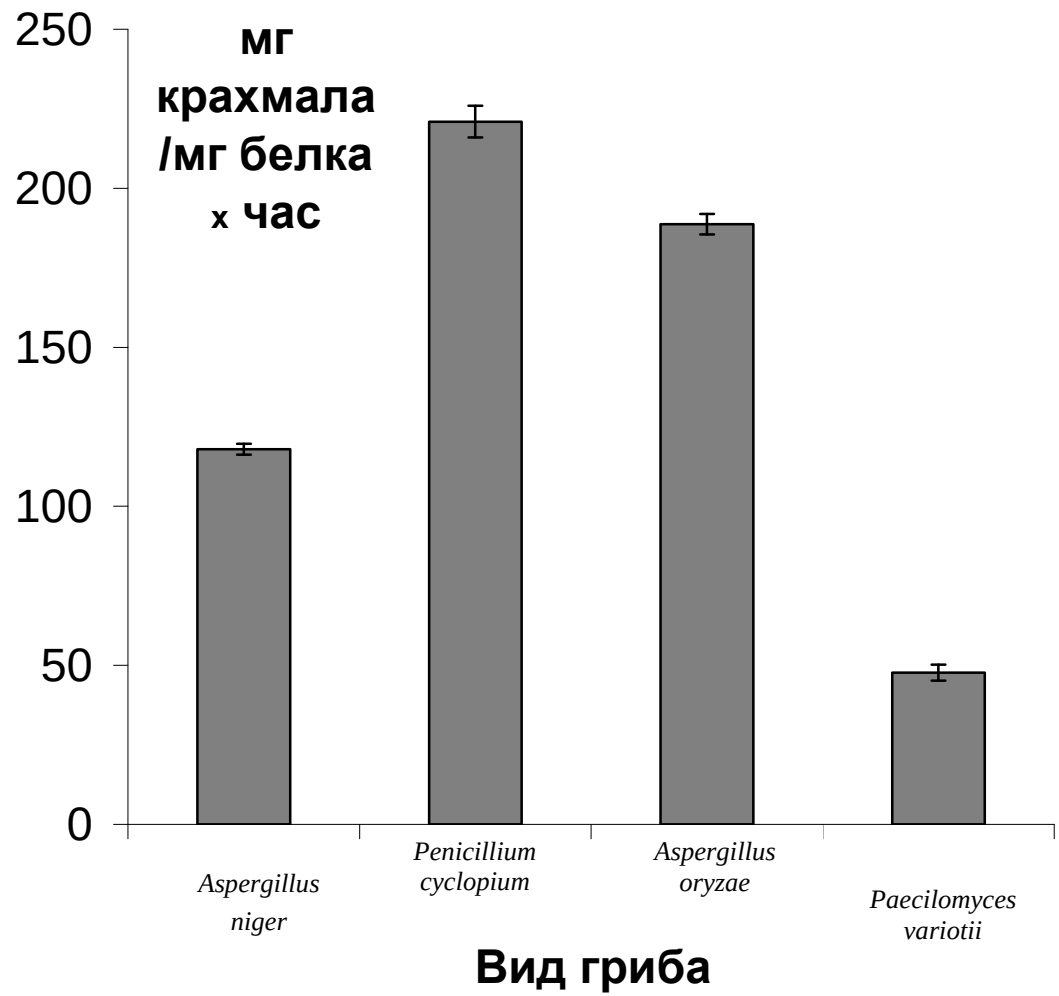


Рис. 3.14. Суммарная экзоамилолитическая активность грибов-деструкторов крахмала

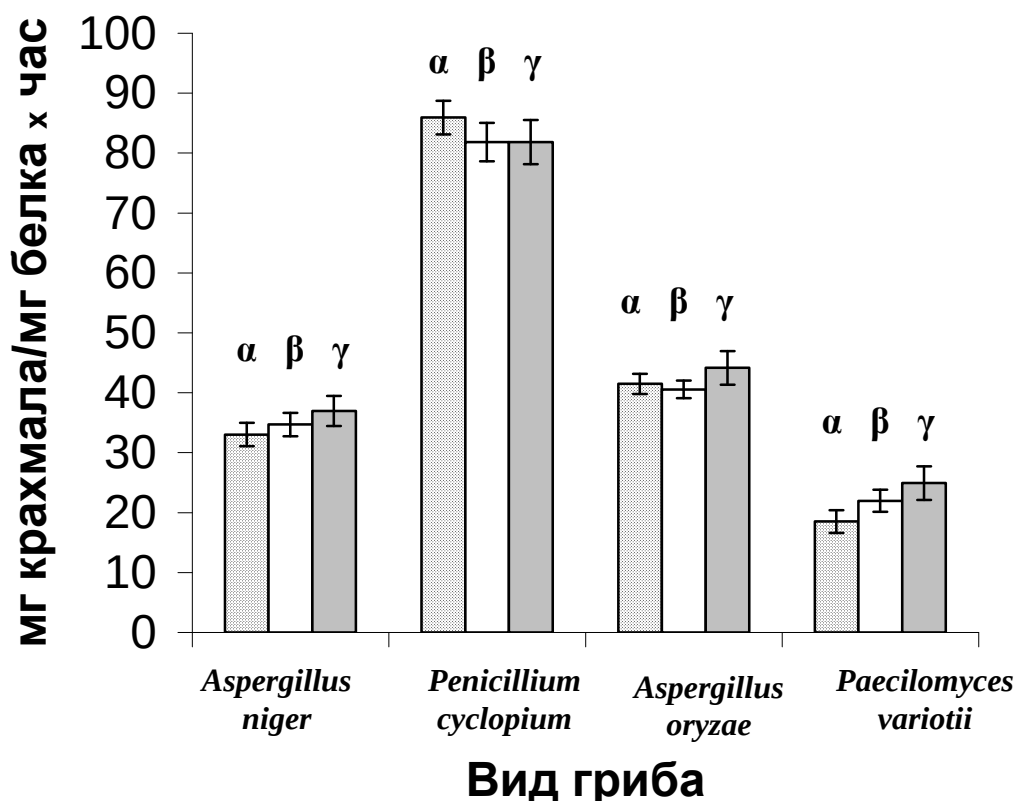


Рис. 3.15. Активность отдельных изоформ экзоамилаз грибов-деструкторов крахмала

В дальнейшем представляло интерес изучить эстеразную активность вышеуказанных штаммов-деструкторов сополимеров крахмала и полиметилакрилата. Нами было проведено определение эстеразной активности у культур *Aspergillus oryzae* и *Paecilomyces variotii*, грибы выращивались на ОПС Чапека с добавкой полиметилакрилата (1 г. полиметилакрилата и 7 г. сахарозы на 1 л. среды), определение проводилось 14 сутки культивирования. В качестве контроля аналогичное определение проводилось для гриба *Aspergillus amstelodami*, являющегося активным деструктором чистого полиметилакрилата.

Результаты данного эксперимента представлены на рисунке 3.16. Результаты исследований показали, что культуры *Aspergillus oryzae* и *Paecilomyces variotii* обладают высокой активностью внеклеточных эстераз и по данному показателю превосходят культуру *Aspergillus amstelodami*.

Т. о. можно сделать вывод, что исследовавшиеся нами культуры грибов *Aspergillus oryzae* и *Paecilomyces variotii* способны утилизировать оба компонента синтезированной нами полимерной композиции (крахмал и полиметилакрилат). Однако в первую очередь утилизируется более энергоемкий и легко утилизируемый компонент – крахмал, и лишь затем полиметилакрилат, то есть в процессе биodeградации полимерной композиции микромицетами наблюдается эффект диауксического роста.

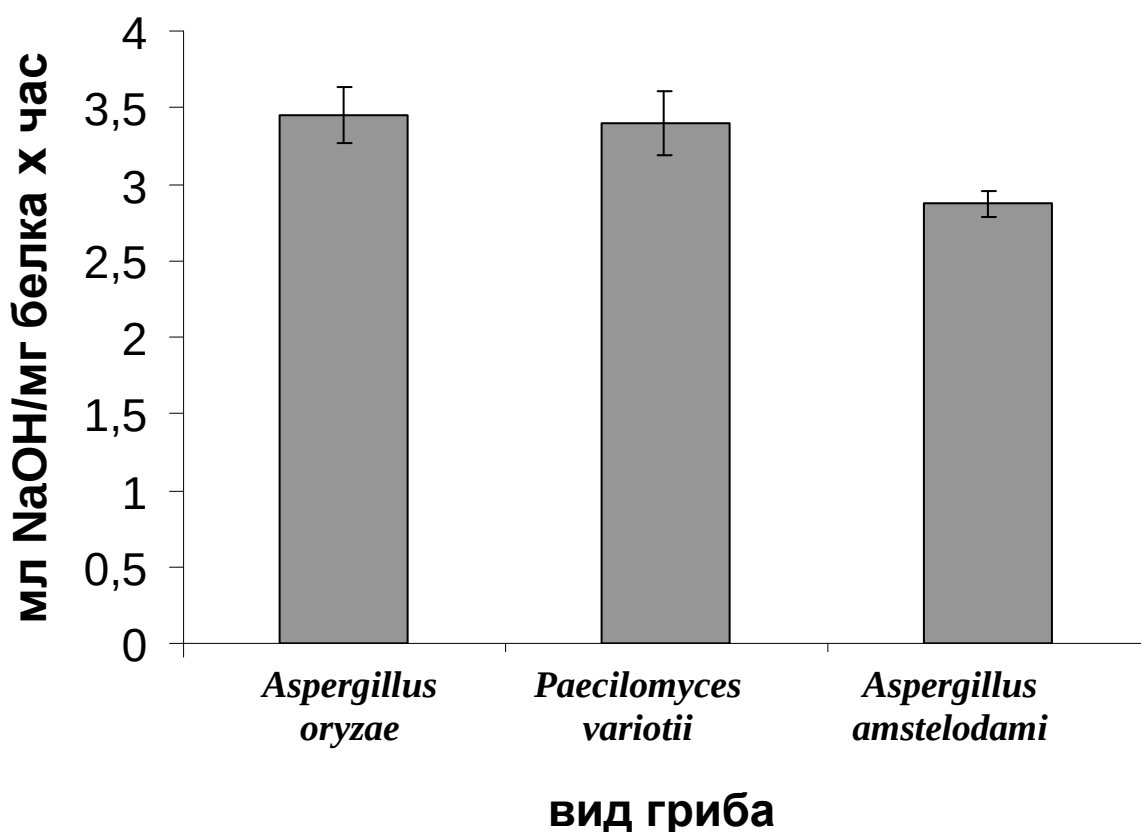


Рис. 3.16. Экзоэстеразная активность грибов-деструкторов полиметилакрилата

Полученные результаты вызвали у нас следующий вопрос: почему культуры грибов, способные утилизировать крахмал и полиметилакрилат по отдельности, не могут поражать их сополимеры? Проведённые нами ранее исследования позволяют сделать следующее предположение – в данном случае имеет место избирательное подавляющее жизнедеятельность большинства плесневых грибов действие одного из компонентов композиции

(в данном случае инициатора – персульфата аммония). Для проверки этого предположения нами была поставлена следующая серия экспериментов: проводилось определение в культуральной жидкости амилазной и эстеразной активности по методикам аналогичным вышеописанным, но в присутствии в инкубационной среде персульфата аммония в количестве равном его доле к массе полимера – 10%. Результаты данного эксперимента представлены на рисунках 3.17, 3.18, 3.19.

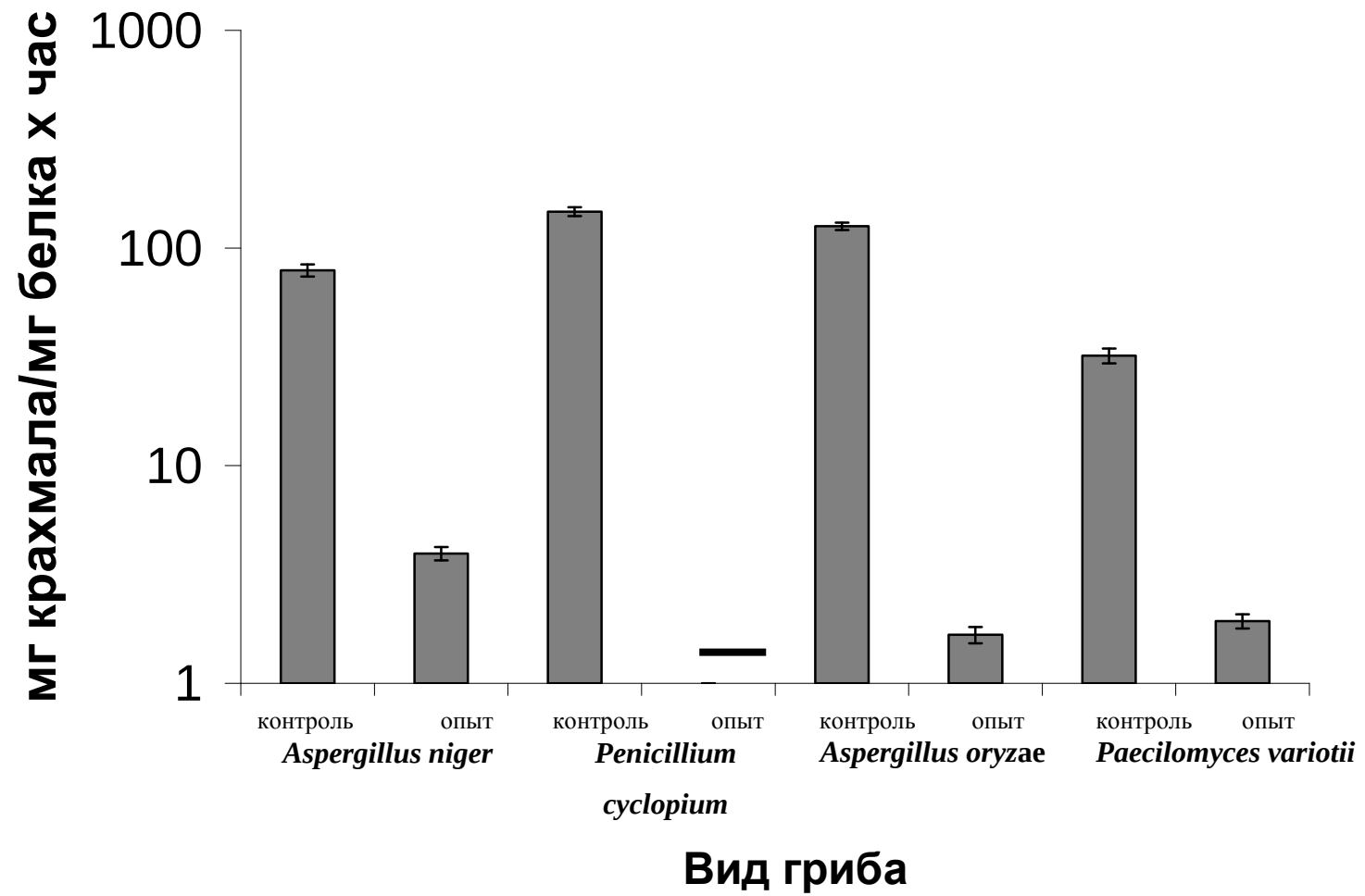


Рис. 3.17. Суммарная экзоамилолитическая активность грибов-деструкторов крахмала при влиянии персульфата аммония

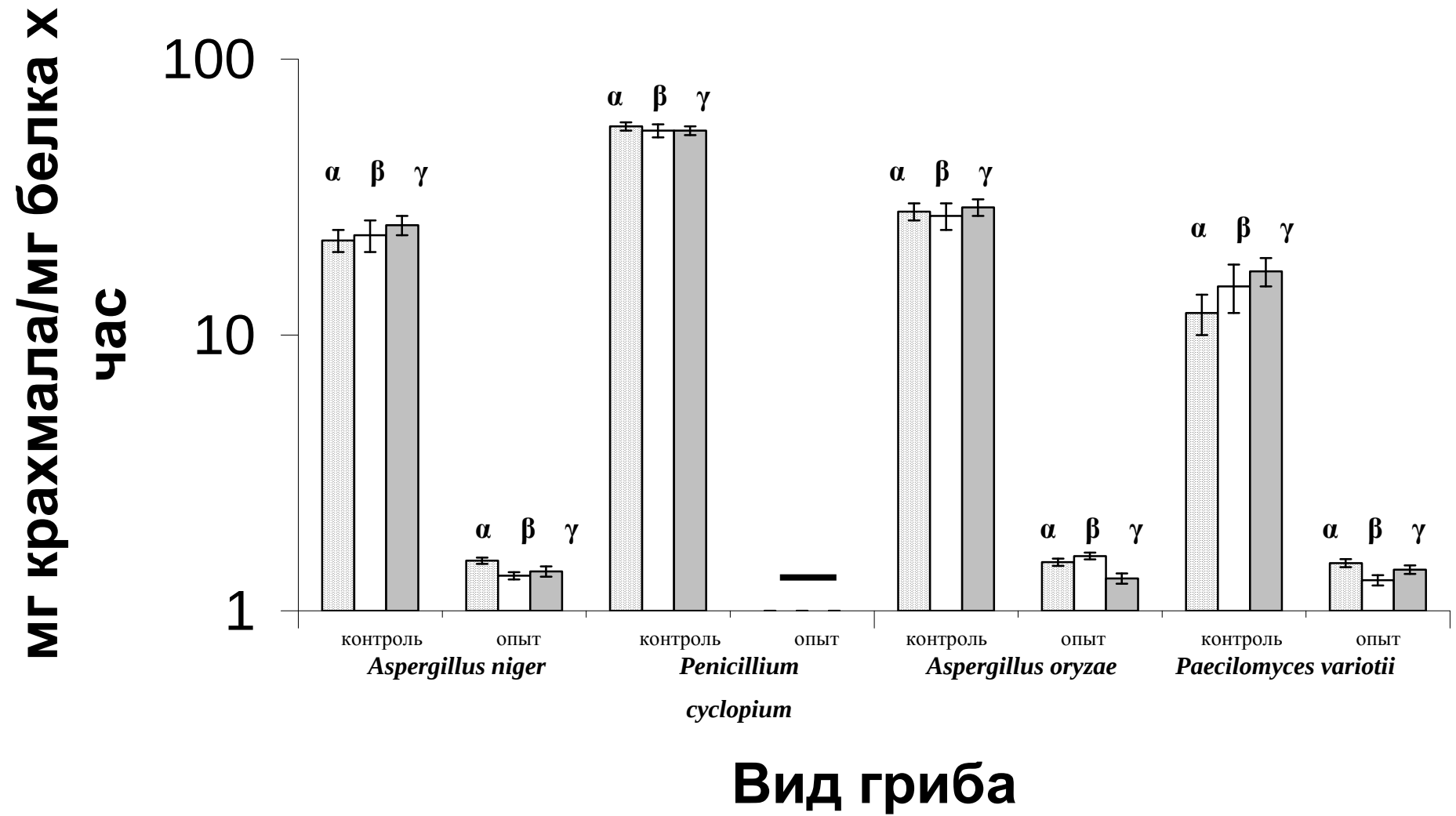


Рис. 3.18. Активность отдельных изоформ экзоамилаз грибов-деструкторов крахмала при влиянии персульфата аммония

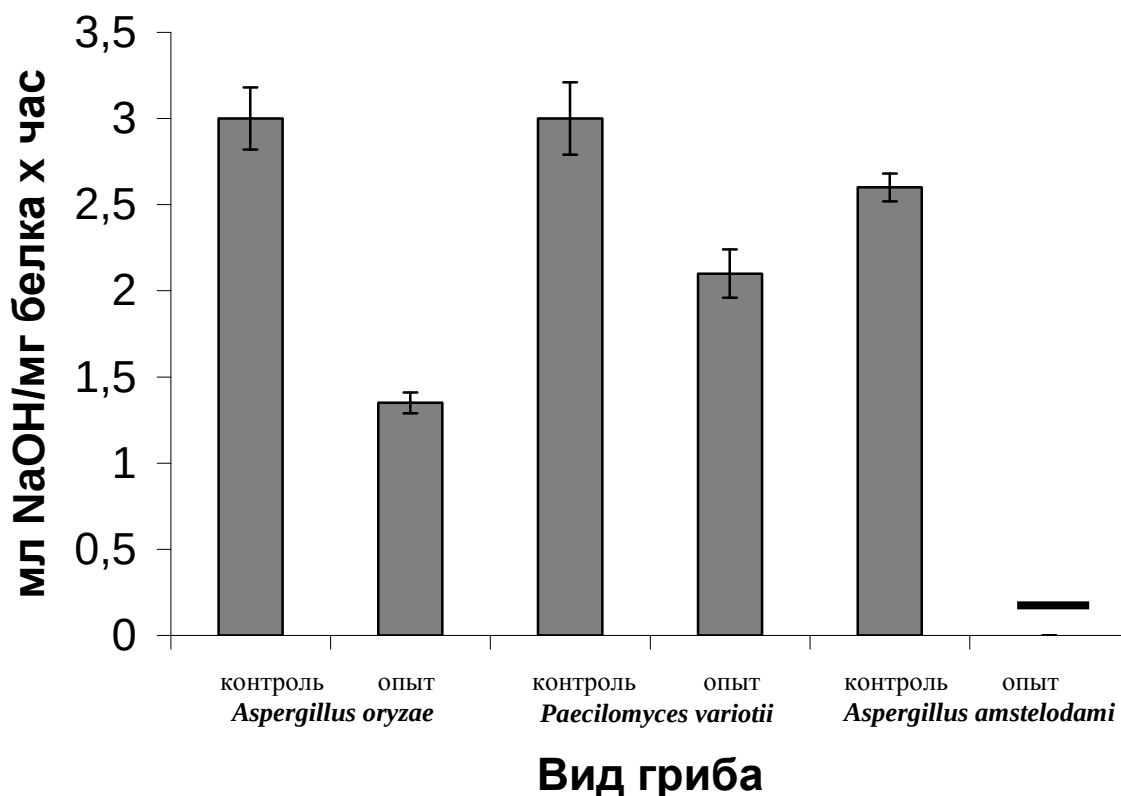


Рис. 3.19. Экзоэстеразная активность грибов-деструкторов полиметилакрилата при влиянии персульфата аммония

Результаты данных экспериментов показали снижение экзоамилазной активности при действии персульфата аммония у культуры *Aspergillus niger* в 20 раз, практически полное отсутствие активности у *Penicillium cyclopium*, снижение активности в 75 раз у *Aspergillus oryzae* и в 17 раз у *Paecilomyces variotii* по сравнению с контролем. Для экзоэстераз нами было показано снижение активности по сравнению с контролем у *Aspergillus oryzae* в 2 раза, у *Paecilomyces variotii* в 1,4 раза и практически полное отсутствие активности у *Aspergillus amstelodami*.

Данные результаты дают возможность сделать следующий вывод: наличие устойчивых к действию персульфата аммония экзоэстераз у культур *Aspergillus oryzae* и *Paecilomyces variotii* позволяет им осуществлять деструкцию сополимеров крахмала и полиметилакрилата в отличие от других

видов грибов, не обладающих устойчивыми формами таких ферментов. А то, что у вышеуказанных культур даже при действии персульфатом аммония сохраняется экзоамилазная активность подтверждает предположение о том, что в процессе биodeградации данной полимерной композиции вышеуказанными микромицетами может иметь место эффект диауксического роста.

3.2.6.4. Исследование роли экзохитозаназы микромицетов в процессе деструкции полимерных композиций на основе природных и синтетических полимеров

Ранее нами были синтезированы 14 новых композиций на основе сополимеров хитозана с виниловыми мономерами.

Целью экспериментов данного этапа работы являлось исследование роли экзохитозаназ грибов – активных биodeградантов соответствующих полимерных композиций (эти сведения были получены нами в исследованиях предыдущего этапа) в процессе биodeструкции ими композиционных материалов.

Выбор данного фермента исходил из первоначальной нашей концепции по возможным механизмам деструкции полимерных композиций, а именно, –

а) на основе проведенных нами исследований было установлено, – какой из компонентов композиции и в какой степени способен являться субстратом для микроорганизмов;

б) исходя из химического строения данных субстратов, был определен круг возможных экзоферментов, способных осуществлять их метаболизацию и, таким образом, участвовать в деструктивном процессе материалов.

Нами был проведен цикл комплексных биохимических исследований, позволяющий определить роль экзохитозаназ в деструкции композиционных материалов. В качестве объектов были взяты полимерные композиции, хорошо утилизируемые грибами: ПВХ : хитозан (1 : 0,2); хитозан : АН (1 : 1);

хитозан : АА (1 : 1); хитозан : МА (1 : 1); блок-сополимер хитозан : МА (1 : 1,3).

В качестве биологических объектов были взяты грибы *A. terreus* и *P. cyclopium* эти грибы проявили максимальный рост на соответствующих композиционных материалах. Данные культуры были взяты из стандартной коллекции микромицетов по ГОСТ 9.049-91, так как ранее нами было показано, что стандартные культуры обладали более выраженной деструктивной активностью по сравнению с «дикими» штаммами.

Основными метаболитами, определяющими начальные пути биодеструкции, несомненно, являются экзоферменты грибов. Наличие активности того или иного фермента при росте грибов на композиции определенного химического состава позволяет определить (предположить) как возможные продукты реакции, так и те химические группировки которые затрагивает деструкционный процесс. Степень активности фермента позволяет оценить интенсивность деструкционного процесса, в котором данный фермент принимает участие.

На рисунке 3.20 представлены результаты биохимических исследований по грибу *P. cyclopium* при росте его на привитом сополимере хитозан : МА.

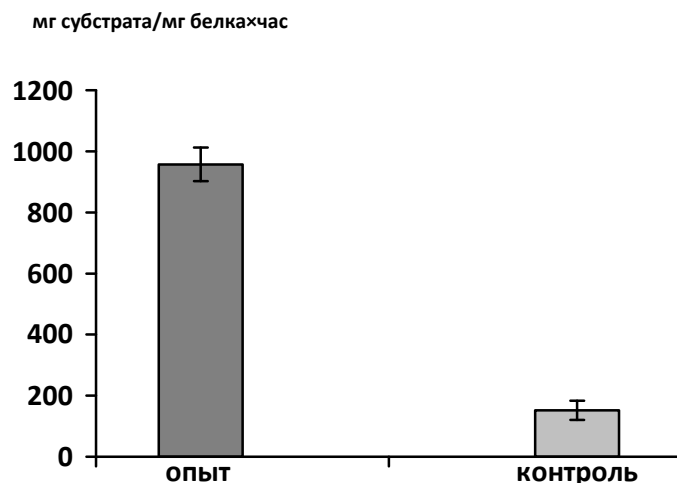


Рис. 3.20. Активность хитозаназы *Penicillium cyclopium* в процессе деструкции композиции «привитой сополимер хитозан : МА (1 : 1)»

Как видно из данных рисунка, при внесении в среду культивирования полимерного материала наблюдается резкое увеличение ферментативной активности экзохитозаназы. Активность увеличивается ~6 раз. Это может свидетельствовать о том, что в деструкции данной композиции ключевое участие принимает главным образом грибная экзохитозаназа. Аналогичная картина наблюдается также и в экспериментах с композицией «Блок-сополимер хитозан : МА (1 : 1,3)», (рисунок 3.21).

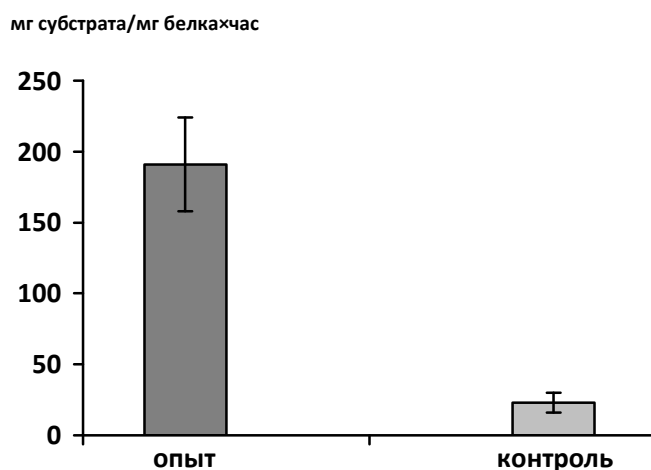


Рис.3.21. Активность хитозаназы *Penicillium cyclopium* в процессе деструкции композиции «Блок-сополимер хитозан : МА (1 : 1,3)»

Здесь также наблюдается увеличение хитозаназной активности в ~ 8 раз. Это позволяет предположить, что в процессе деструкции в наибольшей степени и в первую очередь и в том и в другом случае идет утилизация грибом природного компонента композиций – хитозана.

В рисунках 3.22–3.24 представлены результаты по активности экзохитозаназы гриба *A. terreus* в процессе деструкции им легко утилизируемых композиций. При росте этого гриба на полимере «привитой сополимер хитозан : АА (1 : 1)» в культуральной среде наблюдается резкое возрастание активности хитозаназы в опытном варианте.

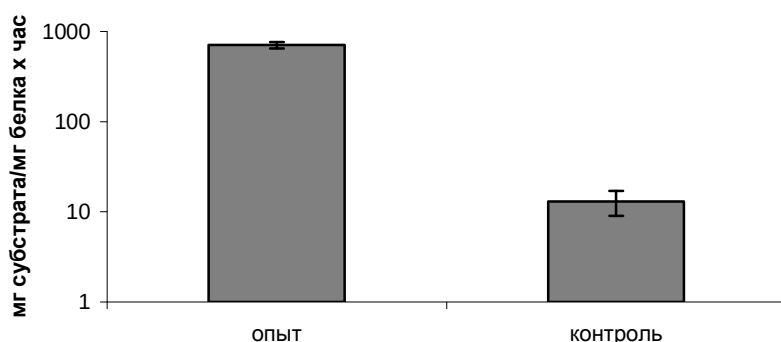


Рис. 3.22. Активность экзохитозаназы *Aspergillus terreus* в процессе деструкции композиции «привитой сополимер хитозан : АА (1 : 1)»

При росте *A. terreus* на композиции «привитой сополимер хитозан : АН (1 : 1)» нами также было обнаружено увеличение экзохитозаназной активности ~ 17 раз (рисунок 3.23).

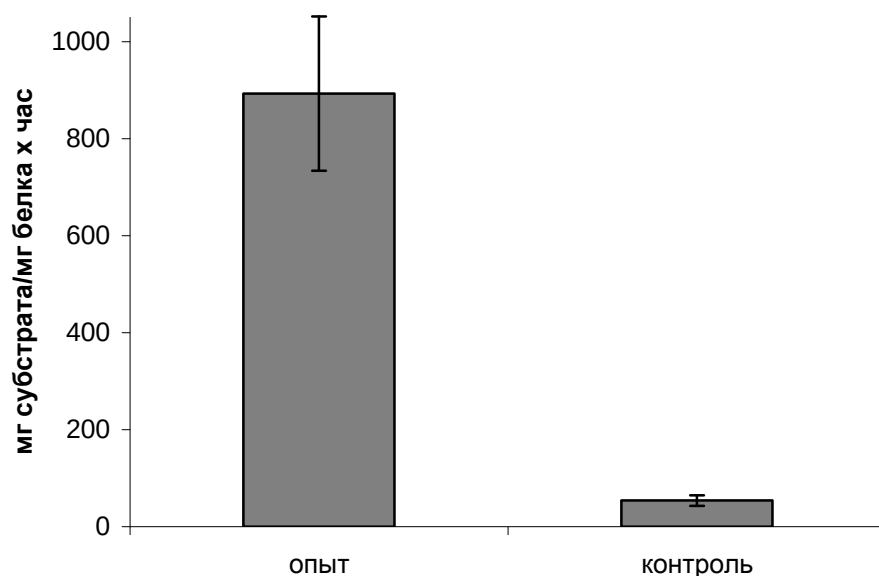


Рис. 3.23. Активность экзохитозаназы *Aspergillus terreus* в процессе деструкции композиции «привитой сополимер хитозан : АН (1 : 1)»

В экспериментах, результаты которых приведены на рисунке 3.24 при деструкции композиции «ПВХ : хитозан (1 : 0,2)» также как и в предыдущем опыте наблюдается резкое увеличение активности хитозаназы ~20 раз. Следовательно, главная роль в деструкции этой композиции (природного ее компонента) принадлежит хитозаназе.

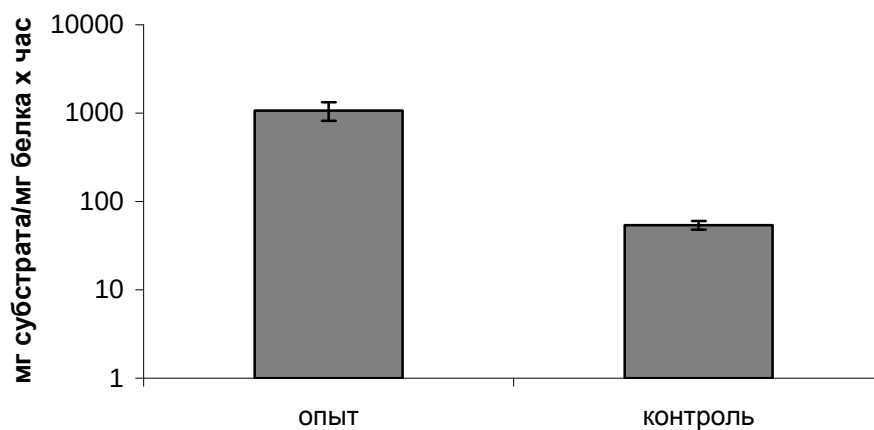


Рис. 3.24. Активность экзохитозаназы *Aspergillus terreus* в процессе деструкции композиции «ПВХ : хитозан (1 : 0,2)»

На рисунке 3.25 представлены результаты по активности экзохитозаназы при росте *A. terreus* на хитозане.

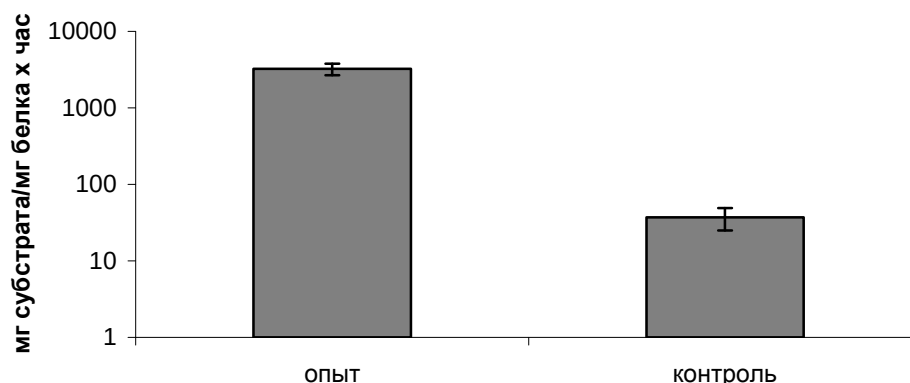


Рис. 3.25. Активность экзохитозаназы *Aspergillus terreus* в процессе деструкции хитозана

Из рисунка видно, что активность данного фермента в опыте очень резко возрастает, что говорит об активной роли данного фермента в биоутилизации хитозана. Результаты данного эксперимента подкрепляют ранее высказанное нами предположение, что все композиции, содержащие хитозан, подвергаются метаболизации путем использования этого биополимера в качестве источника питания за счет высокой активности экзохитозаназ у грибов – активных деструкторов.

По итогам выполненных на данном этапе работы экспериментов нами могут быть предложены возможные начальные механизмы биодеструкции исследуемых материалов. Нами четко и однозначно была установлена ведущая роль экзохитозаназы в деструкции всех полимерных композиций, в состав которых входит хитозан. Следовательно, наиболее вероятным начальным механизмом утилизации всех композиций, содержащих хитозан, является разрушение именно этого природного полимера.

3.2.6.5. Действие ряда химических соединений на хитозаназную активность

Aspergillus terreus

Известно, что одним из эффективных способов регулирования грибостойкости полимерных композиций является введение в их состав различных химических присадок (активаторов и ингибиторов). Научно обоснованный выбор таких добавок возможен при учете 2-х важных моментов: знание механизмов ингибирующего/активирующего действия на метаболизм биодеструкторов и установление роли отдельных метаболитов микроорганизмов (микромицетов) в возникновении и развитии начальных процессов биодеструкции. Ранее нами была исследована активность грибных хитозаназ, способных участвовать в деструкционных процессах композиций определенного химического состава. На данном этапе работы нами исследовался ингибирующий и активирующий эффект ряда химических соединений различного строения на активность хитозаназы гриба *Asp. terreus* – одного из наиболее активных биодегрантов ранее изученных нами композиций на основе природных и синтетических полимеров. В качестве биоцидов использовались: сульфат меди (неорганическое соединение), катон (производное бензтиазола), экодез (ЧАС). Выбор этих соединений основывался на многочисленных литературных данных о возможности ингибирования ими оксидоредуктаз и гидролаз различных микроорганизмов. В качестве активатора применялся хлористый кальций, который также, согласно литературным данным, способен вызывать активацию вышеуказанных ферментов, как за счет регулирования экспрессии соответствующих генов (т. е. влиять на синтез фермента), так и за счет непосредственного действия на активный центр энзимов. Концентрации биоцидов подбирались экспериментально и были на уровне сублетальных доз (ингибирование роста *A. terreus* под влиянием токсикантов происходило в пределах 50–80%). Результаты данных исследований представлены на рисунке 3.26.

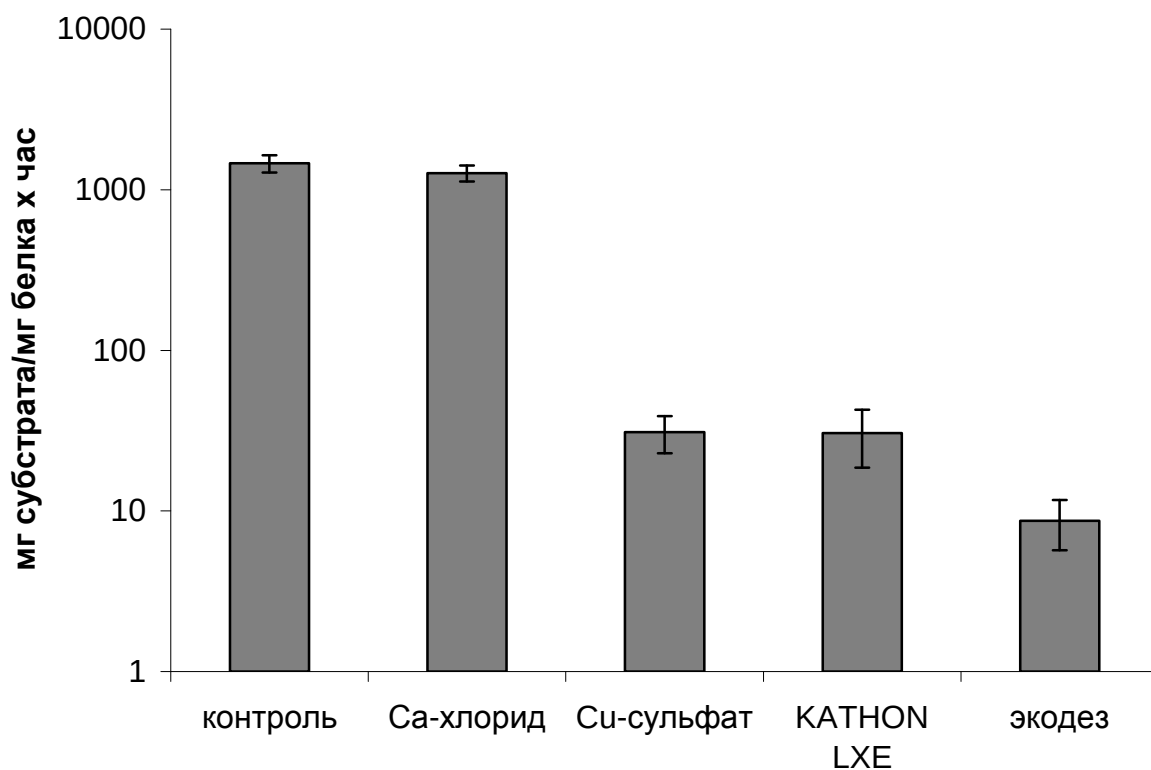


Рис. 3.26. Действие химических соединений на активность экзохитозаназы *A. terreus*

Установлено, что все исследуемые биоциды практически полностью подавляли активность экзохитозаназы, особенно эффективно в этом плане действовал экодез. Следует отметить, что хлорид кальция также снижал активность хитозаназы.

Таким образом, проведенные нами физиолого-биохимические эксперименты могут служить теоретической основой для разработки полимерных композиций с регулируемой биостойкостью. В частности, для снижения биоразлагаемости материалов на основе природных полимеров (хитозана, крахмала, целлюлозы) в их состав можно вводить в качестве присадок биоциды катон, сульфат меди, экодез, а также, вероятно, и другие биоциды, близкие им по химическому строению.

Следует также отметить, что окончательный выбор добавок, подбираемых для нужд производства, может быть сделан только после

проведения исследований по их влиянию на основные физико-химические характеристики материалов.

3.2.6.6. Действие высокой температуры на экзохитозаназу *A. terreus*

На данном этапе работы нами было проведено 2 серии экспериментов: в первой серии воздействию подвергался непосредственно мицелий гриба, – во второй – его споры.

1.Обработка мицелия.

Суспензию спор гриба *A. terreus* сажали на ППС, выращивали в течение 11 суток. Мицелий отфильтровывали в стерильных условиях и подвергали обработке (высокая температура +60°C, контроль – без воздействия), затем переносили в свежую ППС и вновь культивировали 14 суток.

В таблицах в столбцах «до воздействия» указана активность фермента в культуральной жидкости до воздействия на мицелий тест-культуры; в столбцах «после воздействия» – активность ферментов в КЖ после повторного культивирования.

2.Обработка спор. Суспензию спор *A. terreus* подвергали обработке (высокая температура +60°C, контроль – без воздействия), после чего переносили на ППС. Измерение активности ферментов проводили в КЖ после 14-дневного культивирования.

Варианты обработки:

Сублетальная температура: +60°C, экспозиция – 2 часа. Данная температура была выбрана по результатам предварительных опытов (+65°C в течение двух часов вызывала практически полную гибель гриба, +55°C почти не индуцировала гибели мицелия и спор, поэтому была выбрана промежуточная температура +60°C).

Результаты первой серии экспериментов представлены на рисунке 3.27.

Результаты второй серии экспериментов представлены на рисунке 3.28

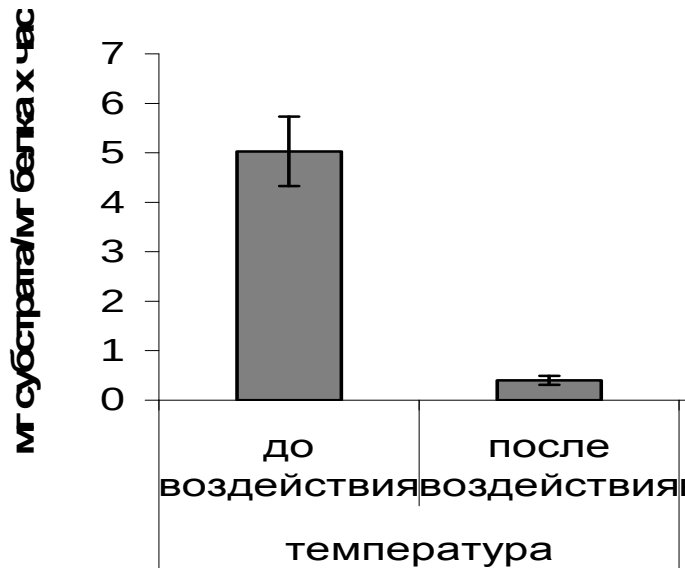


Рис. 3.27. Действие высокой температуры на активность экзохитозаназы *Aspergillus terreus* (обработке подвергался мицелий)

Как видно из данных, представленных на рисунке, воздействие высокой температуры приводит к существенному ингибированию хитозаназной активности, – приблизительно в 10-12 раз.

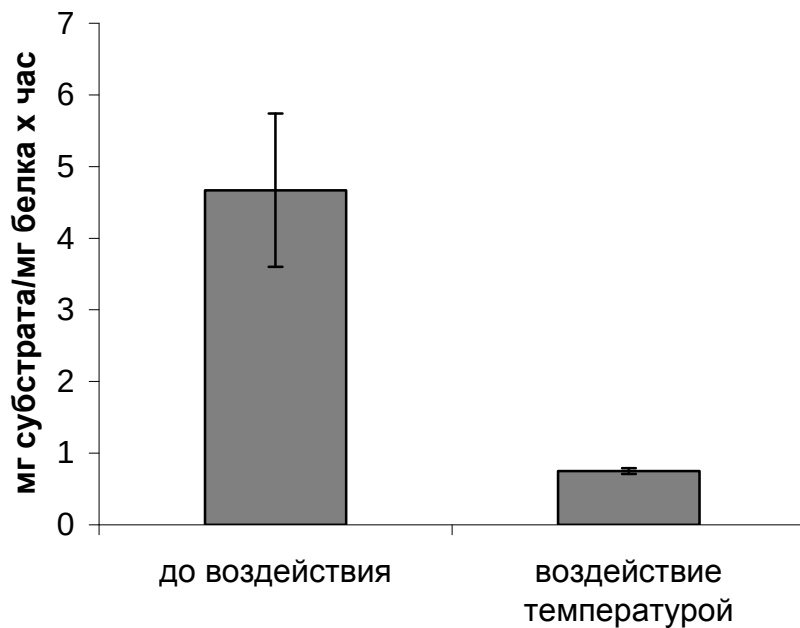


Рис. 3.28. Действие высокой температуры на активность экзохитозаназы *Aspergillus terreus* (обработке подвергались споры гриба)

Анализ результатов, представленных на рисунке 3.28 показал следующее:

Под действием высокой температуры наблюдалось существенное снижение активности экзохитозаназы.

Можно предположить, что снижение активности экзохитозаназы у мицелия, подвергнувшегося воздействию высокой температуры может быть связано с двумя причинами: а) снижением синтеза фермента; б) нарушением транспорта экзофермента из клетки в окружающую среду.

Данные этой серии экспериментов подтверждают высказанное нами ранее предположение, что физические факторы способны оказывать влияние не только на полимерные материалы (субстраты), но и на физиолого-биохимические характеристики микромицетов-деструкторов. Этот факт необходимо учитывать как при прогнозировании и оценке степени грибостойкости материалов, так и при выборе ингибиторов или активаторов деструктивного процесса полимерных композиций. Следовательно, действие климатических факторов может быть использовано для регуляции процесса биодеструкции полимерных материалов (как его активации, так и ингибирования).

Нами были рассмотрены возможные начальные механизмы биодеструкции исследуемых материалов. Установлена ведущая роль хитозаназы в деструкции всех композиций на основе хитозана. Следовательно, возможным начальным механизмом утилизации всех композиций, содержащих хитозан, является разрушение именно этого полимера. Показано, что природные полимеры в составе композиции значительно лучше утилизируются, чем синтетические. Данный факт может объясняться диауксическим ростом микромицетов на субстратах, т.е. сначала усваивается наиболее доступный источник питания. Также отмечено, что в процессе роста грибов на композициях в ряде случаев имело место ингибирование активности ряда экзоферментов, – амилаз, эстераз. Это

связано с тем, что в составе композиции имеются вещества, которые способны снижать активность ферментов.

Особенно этот процесс хорошо заметен на малоразлагаемых композициях. В состав всех изученных нами малоразлагаемых композиций входит поливинилхлорид. Можно предположить, что в составе этих полимеров имеются ингибиторы экзоферментов грибов, в результате чего их рост на данных материалах подавляется.

Проведенные нами исследования позволяют определить пути создания (получения) композиций с регулируемой биостойкостью. Первым из таких путей является введение в состав композиций специальных добавок, оказывающих ингибирующее или активирующее действие на экзоферменты, принимающие участие в начальных этапах биодеструкции. Для того, чтобы усилить деструкцию мало разлагаемых материалов и сделать их легко утилизируемыми (речь идет о композициях, содержащих в своем составе ПВХ) необходимо освободиться от ингредиентов полимеров, тормозящих рост грибов, такими веществами являются ионы тяжелых металлов, которые в количествах достаточных для ингибирования роста грибов могут содержаться в ПВХ-смоле. Одним из путей, позволяющих освободиться от ионов тяжелых металлов, является использование в композициях хитозана, который способен адсорбировать данные ионы. Подтверждением жизнеспособности этого пути является тот факт, что композиция ПВХ-хитозан является биоутилизируемой (в отличие от других ПВХ-содержащих композиций, которые являются биостойкими).

Другой путь – усиление биоразлагаемости, – это введение в состав композиции активаторов ферментов, участвующих в деструкции синтетической части полимера.

Таким образом, на основе проведения комплекса экспериментов нами были изучены физиолого-биохимические аспекты начальных этапов деструкции композиций на основе природных и синтетических полимеров

микроскопическими грибами. Это позволило нам разработать алгоритм получения полимерных материалов с регулируемой биостойкостью.

С учетом экспериментов по изучению действия климатических факторов на полимерные материалы и метаболизм микромицетов-деструкторов этот алгоритм нами может быть сформулирован следующим образом:

1. Целенаправленный выбор синтетической и природной части полимерной композиции (учитываются биологические, химические, механические и термодинамические свойства)
 2. Модификация функциональных групп компонентов полимерной композиции с целью регулирования ее биологических свойств
 3. Введение специальных биоцидных присадок в композицию, изменяющих их биостойкость (выбор присадок основан на изучении их действия на метаболизм микроорганизмов – активных биодegradантов)
 4. Оценка степени изменений свойств (химических и механических) композиций в результате введения в их состав специальных присадок
 5. Экоотоксикологические исследования по оценке влияния полученных материалов на окружающую среду
 6. Исследования по оценке действия климатического старения на грибостойкость полимерных материалов различного уровня биостойкости
- Блок-схема данного алгоритма представлена на рисунке 3.29.

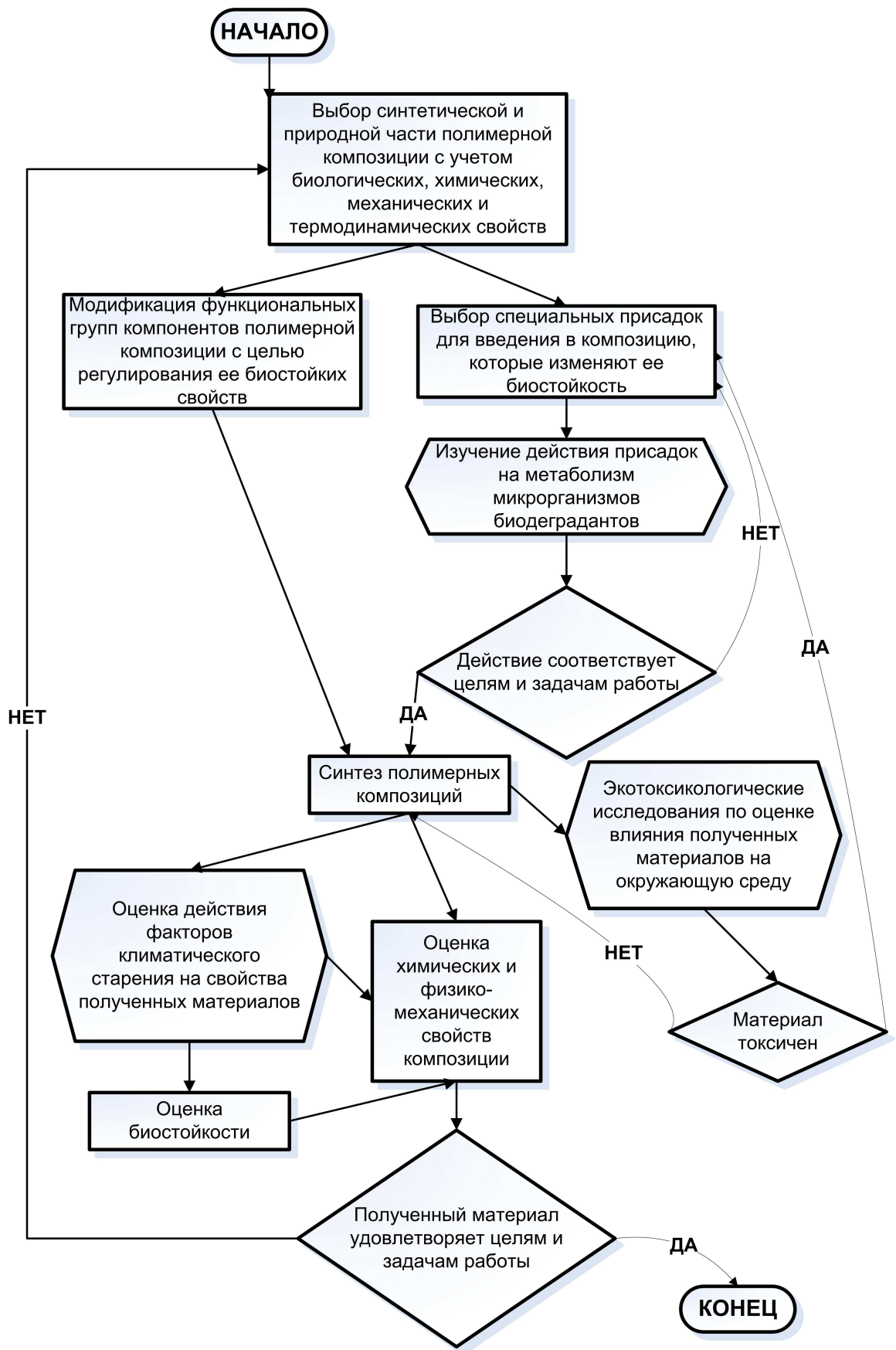


Рис. 3.29. Алгоритм получения полимерных материалов с регулируемой биостойкостью

3.2.7. Физиологические и биохимические аспекты действия ряда абиотических (физических) факторов на микромицеты-биодеструкторы

Известно, что одним из наиболее эффективных и длительно действующих способов защиты материалов от поражения микроорганизмами является применение биоцидных соединений (Бочаров, 1984). Повышенную опасность для окружающей среды, как правило, представляют синтетические вещества, используемые в качестве средств защиты от микробных повреждений. В силу исходной токсичности, не специфичности действия они длительно сохраняются и накапливаются в природе, оказывая негативное действие на все живые организмы и биоценозы в целом. Продукты их частичной биологической или химической трансформации могут быть причиной токсикологического риска. В значительной степени ситуация осложняется появлением у грибов резистентности к фунгицидам, что вызывает необходимость увеличения норм их расхода и частоты применения. Практически неизученным остается вопрос о последствии фунгицидов, в том числе вопрос о причинах более сильного повреждения грибами материалов, ранее обработанных фунгицидами.

Учитывая, что биоповреждениям подвергается практически все, что создает и сооружает человек во всех сферах своей деятельности, легко представить, сколь велики масштабы загрязнения среды химическими веществами, используемыми для защиты от возбудителей повреждений. Так как современное общество не может обходиться без фунгицидов, получаемых методом химического синтеза, снижение их негативного воздействия на окружающую среду представляют собой важнейшую экологическую проблему (Сухаревич и др., 2009).

Для решения этой проблемы ученые многих стран, в том числе и России, считают возможным снизить расход используемых фунгицидов за

счет повышения их эффективности или создания новых, более эффективных, чем известные. Однако создание новых фунгицидов, отвечающих всем требованиям, предъявляемым к веществам такого назначения, является процессом очень длительным и дорогостоящим.

В отдельных случаях в борьбе с микромицетами – агентами биоповреждений используют специальные физические методы воздействия на них с целью полного или частичного уничтожения. Главное достоинство применения физических методов по сравнению с химическими методами состоит в их безвредности для окружающей среды, поскольку при этом в обрабатываемые объекты не привносятся никакие химические субстанции и в них не происходит химической коррозии. Однако следует отметить, что физическое санирование не всегда полностью уничтожает агентов-биоповреждения, а кроме того, оно не обеспечивает профилактической защиты материалов, изделий и конструкций. Поэтому в случае отсутствия последующей химической защиты, физически saniрованные объекты должны периодически подвергаться экспертному обследованию.

С экологических позиций более перспективным способом снижения химической нагрузки на среду является комплексное использование химических и физических методов, т.к. при этом биоцидный эффект достигается при более низкой концентрации токсических веществ. Примерами такого сочетания являются:

- аэрозольное распыление препарата и облучение ультрафиолетом (Иммиев, Закомырдин, 1990);
- щадящая стерилизация под влиянием небольших доз ионизирующего излучения, длинноволнового УФ или микроволн с добавлением к ним биоцидов низкой концентрации (Соломатов и др., 2001).

Однако, несмотря на очевидную целесообразность такой позиции, до настоящего времени она не получила должного развития. В значительной степени эта ситуация обусловлена недостаточным уровнем научно-практических разработок и связанным с этим некоторым информационным вакуумом, а также отсутствием подготовки специалистов в этой области.

В настоящее время, эффекты действия химических и физических средств биозащиты на микромицеты-деструкторы хорошо известны, но недостаточно изученными остаются механизмы их действия. В особенности для физических факторов, – например физиолого-биохимические механизмы действия микроволн на микромицеты-деструкторы практически не изучены. Целенаправленный и планомерный подбор средств фунгицидной защиты (как химических, так и физических) невозможен без знания механизмов их воздействия на метаболизм грибов. Решение данного вопроса позволит осуществлять научно обоснованный подбор фунгицидного фактора и степень его воздействия на биоповреждающий организм.

В связи с вышеизложенным, целью данного этапа работы являлось изучение биоцидного действия как непосредственно ряда физических факторов, – ультрафиолет (УФ), электромагнитное излучение крайне высокой частоты низкой интенсивности миллиметрового диапазона (ЭМИ КВЧ), – так и в сочетании с химическими биоцидными препаратами в предельно низких концентрациях.

3.2.7.1. Действие ультрафиолетового излучения на жизнедеятельность микромицетов-биодеструкторов

Представляло интерес изучить действие ультрафиолета (УФ) на тест-культуры микроскопических грибов. Для этого нами были приготовлены суспензии пропагул (части грибной структуры, воспроизводящие микромицет) грибов *Alternaria alternata* и *Penicillium chrysogenum*, по 1 мл. которых высевалось на поверхность твердой питательной среды Чапека-

Докса в чашки Петри, затем проводилось облучение различными дозами ультрафиолетового излучения: 30, 60, 90, 120, 150 и 180 мДж/см². Результаты представлены в таблице 3.30.

Таблица 3.30

Изменение титра пропагул микромицетов при воздействии
различными дозами УФ

Вид гриба	КОЕ/мл						
<i>Alternaria alternata</i>	контроль	30 мДж/см ²	ΔT , %	60 мДж/см ²	ΔT , %	90 мДж/см ²	ΔT , %
	59±8	45±6	23.73	26±4	55.93	22±5	62.71
	контроль	120 мДж/см ²	ΔT , %	150 мДж/см ²	ΔT , %	180 мДж/см ²	ΔT , %
	102±14	32±7	68.63	31±4	69.61	20±4	80.39
<i>Penicillium chrysogenum</i>	контроль	30 мДж/см ²	ΔT , %	60 мДж/см ²	ΔT , %	90 мДж/см ²	ΔT , %
	121±14	68±5	43.80	21±6	82.64	3±1	97.52
	контроль	120 мДж/см ²	ΔT , %	150 мДж/см ²	ΔT , %	180 мДж/см ²	ΔT , %
	290±39	3±1	98.97	2±1	99.31	1±1	99.67

Результаты данного эксперимента показали, что картина действия УФ на разные тест-культуры неоднозначна. Влияние доз в 60 и 90 мДж/см² не приводит к значительной гибели зародышевых структур *A. alternata* в отличие от *P. chrysogenum*. Увеличение дозы до 180 мДж/см² снижает процент выживаемости пропагул до 80,39% у *A. alternata* и 99,67% у *P. chrysogenum*, однако полного отсутствия жизнеспособных зародышевых структур нами не наблюдалось. Подобную особенность в действии УФ можно объяснить особенностями тест-культур, – наличием у *A. alternata* пигмента меланина. Меланин способен выполнять протекторную функцию

при воздействии на грибы различных неблагоприятных факторов, в том числе и жестких излучений. Затем мы расширили выборку тест-культур, на которые воздействовали дозами 60 и 180 мДж/см². Результаты опытов представлены в таблицах 3.31 и 3.32.

Таблица 3.31

Изменение титра пропагул микромицетов при воздействии УФ,
доза 60 мДж/см²

Вид гриба	КОЕ/мл		
	контроль	опыт	ΔТ, %
<i>Alternaria alternata</i>	59±8	26±4	55.93
<i>Aspergillus niger</i>	180±7	51±11	71.67
<i>Chaetomium globosum</i>	24±3	14±4	41.67
<i>Fusarium moniliforme</i>	131±7	2±2	98.47
<i>Penicillium chrysogenum</i>	121±14	21±6	82.64
ассоциативная культура	162±22	91±5	43.83

Таблица 3.32

Изменение титра пропагул микромицетов при воздействии УФ,
доза 180 мДж/см²

Вид гриба	КОЕ/мл		
	контроль	опыт	ΔТ, %
<i>Alternaria alternata</i>	102±14	20±4	80.39
<i>Aspergillus niger</i>	220±3	36±13	83.64
<i>Chaetomium globosum</i>	19±6	1±1	94.74
<i>Fusarium moniliforme</i>	72±5	1±1	98.61
<i>Penicillium chrysogenum</i>	290±39	1±1	99.67
ассоциативная культура	123±2	4±2	96.74

Анализ результатов, представленных в таблицах показал, что при воздействии УФ в дозе 60 мДж/см² наблюдается ингибирование титра КОЕ от 41,67% у *Ch. globosum* до 98,47% у *F. moniliforme*. Однако по настоящему высокую фунгицидную активность мы наблюдали только при воздействии УФ в дозе 180 мДж/см², особенно хорошо это заметно при сравнении результатов фунгицидного действия УФ на ассоциативную культуру.

В дальнейшем мы оценивали эффективность действия УФ на «дикие» штаммы микромицетов, которые ранее были выделены нами в чистую культуру из воздуха городских помещений. Результаты данного эксперимента представлены в таблице 3.33.

Таблица 3.33

Изменение титра пропагул «диких» штаммов микромицетов при
воздействии УФ в дозах 60 и 180 мДж/см²

Вид гриба	КОЕ/мл				
	контроль	опыт			
		60 мДж/см ²	ΔТ, %	180 мДж/см ²	ΔТ, %
<i>Aspergillus fumigatus</i> НУ-8	140±8	6±2	95.71	1±1	99.29
<i>Fusarium moniliforme</i> НУ-10	60±3	0±0	100	0±0	100
<i>Penicillium terrestre</i> НУ-9	96±13	7±3	92.71	0±0	100
<i>P. citrinum</i> НУ-2	138±18	0±0	100	0±0	100
<i>Paecilomyces variotii</i> НУ-7	67±16	7±4	89.55	1±1	98.51

Как видно из данных таблицы жизнеспособность пропагул ряда «диких» штаммов микромицетов может полностью ингибироваться УФ, причем для *Fusarium moniliforme* НУ-10 и *P. citrinum* НУ-2 полная гибель наблюдается уже при дозе 60 мДж/см², что позволяет нам утверждать, что ультрафиолетовое излучение может быть эффективно использовано для инактивации плесневой составляющей микробно-пылевого аэрозоля в воздухе помещений, однако применять его как средство защиты от биоповреждений можно весьма ограниченно (только при сборке изделий, для минимизации попадания жизнеспособных пропагул микромицетов-деструкторов внутрь корпуса), либо в сочетании с другими средствами биозащиты.

В наших экспериментах ни у одной стандартной тест-культуры микромицетов не наблюдалось 100% гибели ее зародышевых структур, поэтому в дальнейшем представляло интерес оценить развитие мицелия из пропагул, облученных дозами УФ 60 и 180 мДж/см². Результаты эксперимента представлены в таблицах 3.34 и 3.35.

Таблица 3.34

Рост мицелия микромицетов, развивающегося из пропагул, облученных
УФ (доза 60 мДж/см²)

Вид гриба	Время, сутки	Диаметр колоний, мм		
		контроль	опыт	ΔR %
<i>Alternaria alternata</i>	3	19,7±1,5	17,3±1,5	88
	5	41,0±2,0	39,0±6,2	95
	7	56,0±5,6	55,3±2,1	99
	10	83,5±0,7	83,7±1,5	100
	14	89,0±0,0	87,7±4,0	99
<i>Aspergillus niger</i>	3	40,7±1,5	39,7±1,5	98
	5	85,7±4,0	82,7±0,6	96
	7	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	10	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	14	90,0±0,0	90,0±0,0	100
<i>Chaetomium globosum</i>	3	30,0±5,6	27,0±2,6	90
	5	76,3±4,7	70,0±9,2	92
	7	88,3±2,9	90,0±0,0	102
	10	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	14	90,0±0,0	90,0±0,0	100
<i>Fusarium moniliforme</i>	3	19,0±1,0	17,0±1,0	89
	5	41,0±1,7	37,7±2,5	92
	7	57,7±2,5	54,7±3,5	95
	10	77,7±1,2	73,3±1,5	94
	14	81,3±0,6	81,7±2,5	100
<i>Penicillium chrysogenum</i>	3	15,7±2,1	10,3±1,5	66
	5	28,3±1,2	24,7±0,6	87
	7	38,3±0,6	33,0±1,0	86
	10	53,0±1,0	43,0±2,5	81
	14	70,3±3,2	56,0±6,6	80

Таблица 3.35

Рост мицелия миксомицетов, развивающегося из пропагул, облученных
УФ (доза 180 мДж/см²)

Вид гриба	Время, сутки	Диаметр колоний, мм		
		контроль	опыт	ΔR %
<i>Alternaria alternata</i>	3	6,7±1,2	6,0±0,6	90
	5	24,3±3,1	22,0±1,0	91
	7	43,7±1,5	44,3±1,5	101
	10	58,7±1,5	60,0±1,0	102
	14	60,3±0,6	67,7±1,5	112
<i>Aspergillus niger</i>	3	6,0±1,0	1,7±0,6	28
	5	33,0±1,0	24,3±4,0	74
	7	80,3±9,5	62,3±0,6	78
	10	89,3±1,2	87,0±3,0	97
	14	90,0±0,0	90,0±0,0	100
<i>Chaetomium globosum</i>	3	7,7±0,6	1,3±0,5	17
	5	33,3±1,5	23,0±2,0	69
	7	78,7±3,1	60,0±6,9	76
	10	90,0±0,0	76,3±2,3	85
	14	90,0±0,0	84,3±3,2	94
<i>Fusarium moniliforme</i>	3	7,3±0,6	5,0±0,0	68
	5	26,3±2,1	19,7±1,2	75
	7	45,0±5,0	37,3±1,2	83
	10	61,7±4,0	53,3±2,1	86
	14	81,7±1,5	79,3±1,2	97
<i>Penicillium chrysogenum</i>	3	5,0±0,6	3,3±0,6	66
	5	23,7±1,5	17,7±0,6	75
	7	39,7±0,6	33,7±1,5	85
	10	43,0±1,0	36,7±0,6	85
	14	49,0±1,0	46,0±0,0	94

При воздействии УФ в дозе 60 мДж/см² не отмечалось значимых различий в развитии мицелия микромицетов в контроле и опыте. Только *P. chrysogenum* характеризовался замедлением роста в опытном варианте ~20%. Аналогичная картина наблюдается и при дозе 180 мДж/см² – у всех культур отставание роста в опыте имеет место только на 3-5-е сутки культивирования, затем рост в контроле и опыте становится идентичным,

исключение составляет только *A. alternata*, у которой достоверных различий в развитии мицелия не наблюдалось.

Таким образом, в наших экспериментах было показано, что ультрафиолетовое излучение может инактивировать большое количество зародышевых структур микромицетов, однако если полной инактивации всех спорангиев не происходит, то сохранившие жизнеспособность зародышевые структуры могут полноценно развиваться и давать начало мицелию.

Известно, что одним из способов повышения эффективности биозащитных мероприятий является их периодическое повторение. В связи с этим представляло интерес оценить эффективность многократного облучения УФ-излучением. Для этого нами проводились 3-х кратные (1 раз в сутки) облучения УФ-излучением в дозах 60 и 180 мДж/см² тест-культур. Результаты данного эксперимента представлены в таблицах 3.36 и 3.37.

Таблица 3.36

Рост мицелия микромицетов, развивающегося из спорангиев, трехкратно облученных УФ (доза 60 мДж/см²)

Вид гриба	Время, сутки	Диаметр колоний, мм		
		контроль	опыт	ΔR %
<i>Alternaria alternata</i>	5	24,7±0,6	15,7±0,6	64
	7	43,7±1,2	34,0±0,5	78
	10	64,7±1,5	57,3±1,5	89
	14	79,7±1,2	78,0±2,6	98
<i>Aspergillus niger</i>	5	89,3±1,2	79,7±5	89
	7	90,0±0,0	88,3±1,5	98
	10	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	14	90,0±0,0	90,0±0,0	100
<i>Chaetomium globosum</i>	5	76,0±6,1	38,7±7,2	51
	7	87,7±2,5	69,5±6,4	79
	10	90,0±0,0	87,9±4,7	98
	14	90,0±0,0	90,0±0,0	100
<i>Fusarium moniliforme</i>	5	51,0±1,7	34,0±2,0	67
	7	65,0±1,0	50,7±4,6	78
	10	80,3±0,6	70,5±0,7	88
	14	83,0±2,8	81,3±2,1	98
<i>Penicillium chrysogenum</i>	5	21,0±1,0	10,0±0,5	48
	7	32,0±1,0	22,7±0,6	71
	10	45,0±2,6	38,3±1,5	85
	14	54,7±5,0	57,7±2,1	106

Таблица 3.37

Рост мицелия микромицетов, развивающегося из спор, трехкратно облученных УФ (доза 180 мДж/см²)

Вид гриба	Время, сутки	Диаметр колоний, мм		
		контроль	опыт	ΔR %
<i>Alternaria alternata</i>	5	24,3±3,1	14,0±0,0	58
	7	43,7±1,5	32,7±2,1	75
	10	58,7±1,5	43,7±4,5	74
	14	60,3±0,6	69,0±4,6	114
<i>Aspergillus niger</i>	5	33,0±1,0	17,7±2,1	54
	7	80,3±9,5	45,3±1,5	56
	10	89,3±1,2	83,7±0,6	94
	14	90,0±0,0	90,0±0,0	100
<i>Chaetomium globosum</i>	5	33,3±1,5	8,7±2,2	26
	7	78,7±3,1	35,7±5,3	45
	10	90,0±0,0	60,7±6,1	67
	14	90,0±0,0	64,0±5,3	71
<i>Fusarium moniliforme</i>	5	26,3±2,1	11,0±0,0	42
	7	45,0±5,0	31,7±1,2	70
	10	61,7±4,0	40,0±7,0	65
	14	81,7±1,5	70,3±1,5	86
<i>Penicillium chrysogenum</i>	5	23,7±1,5	12,0±1,0	51
	7	39,7±0,6	29,0±1,0	73
	10	43,0±1,0	33,0±2,6	77
	14	49,0±1,0	50,3±0,6	103

Как видно из данных таблицы 3.36 трехкратное облучение тест-культур микромицетов УФ-излучением в дозе 60 мДж/см² не приводит к какому-либо

существенному сдерживанию роста, развивающегося из облученных пропагул мицелия.

Иная картина наблюдается при троекратном облучении тест-культур микромицетов УФ-излучением в дозе 180 мДж/см^2 – наблюдается существенное сдерживание роста на 5–7 сутки культивирования, однако далее рост тест-культур в опыте становится идентичным значениям в контроле, а иногда даже и превышает их.

В дальнейшем представляло интерес оценить действие ультрафиолетового излучения непосредственно на мицелий микромицетов. С этой целью инфекты тест-культур уколом высаживались на поверхность твердой среды Чапека-Докса в чашки Петри, далее чашки в течение 3 суток культивировались в термостате, затем выросший вегетативный мицелий в опытных чашках подвергался облучению УФ в дозах 60 и 180 мДж/см^2 , в контрольных вариантах проводилась имитация облучения контактом с неработающим излучателем. Результаты эксперимента представлены в таблицах 3.38 и 3.39.

Таблица 3.38

Рост мицелия микромицетов, облученного УФ, доза 60 мДж/см²

Вид гриба	Время, сутки	Диаметр колоний, мм		
		контроль	опыт	ΔR %
<i>Alternaria alternata</i>	3	40,0±0,0	32,7±0,6	82
	5	53,7±2,1	48,7±0,6	91
	7	76,3±1,2	73,7±0,6	97
	10	84,3±0,6	83,3±0,6	99
	14	90,0±0,0	90,0±0,0	100
<i>Aspergillus niger</i>	3	82,3±1,5	57,7±2,1	70
	5	90,0±0,0	87,7±0,6	97
	7	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	10	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	14	90,0±0,0	90,0±0,0	100
<i>Chaetomium globosum</i>	3	79,7±0,6	44,0±3,6	55
	5	90,0±0,0	75,7±2,3	84
	7	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	10	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	14	90,0±0,0	90,0±0,0	100
<i>Fusarium moniliforme</i>	3	35,7±6,7	33,0±1,0	92
	5	55,3±2,1	52,0±1,0	94
	7	77,0±1,0	74,3±1,2	96
	10	81,0±1,0	79,7±0,6	98
	14	82,0±1,0	81,0±1,0	99
<i>Penicillium chrysogenum</i>	3	27,0±1,7	18,3±3,1	68
	5	36,0±1,0	27,7±2,5	77
	7	48,0±2,0	39,3±3,1	82
	10	56,0±2,0	48,3±3,8	86
	14	73,3±2,9	63,7±3,1	87

Таблица 3.39

Рост мицелия микромицетов, облученного УФ (доза 180 мДж/см²)

Вид гриба	Время, сутки	Диаметр колоний, мм		
		контроль	опыт	ΔR %
<i>Alternaria alternata</i>	3	24,7±0,6	12,3±2,1	50
	5	44,0±2,6	34,0±2,0	77
	7	56,3±4,5	46,0±2,6	82
	10	60,7±4,7	55,7±3,1	92
	14	80,0±3,0	76,7±2,5	96
<i>Aspergillus niger</i>	3	31,0±1,7	22,0±1,7	71
	5	76,0±1,7	58,3±1,5	77
	7	89,3±1,2	86,0±1,7	96
	10	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	14	90,0±0,0	90,0±0,0	100
<i>Chaetomium globosum</i>	3	30,7±3,2	9,7±1,5	32
	5	51,0±6,1	42,7±9,1	84
	7	60,3±6,7	70,0±8,0	116
	10	62,0±8,6	81,7±10,1	132
	14	62,7±4,6	85,3±8,1	136
<i>Fusarium moniliforme</i>	3	22,7±2,3	15,7±0,6	69
	5	45,0±1,0	37,7±1,5	84
	7	63,0±1,7	58,0±2,6	92
	10	73,0±1,7	72,3±3,5	99
	14	83,3±1,5	82,7±2,5	99
<i>Penicillium chrysogenum</i>	3	24,0±1,0	9,3±1,5	39
	5	42,0±6,0	27,3±0,6	65
	7	51,3±7,2	36,7±0,6	72
	10	54,0±7,8	42,7±2,3	79
	14	56,0±1,7	51,7±5,9	92

Как видно из таблиц, несмотря на сдерживание роста мицелия в опыте с 3 по 5 сутки культивирования, с 7 суток рост в контроле и опыте становится практически идентичным. Возможно, на 7 сутки задействуются приспособительные механизмы, дающие возможность грибному мицелию проявлять устойчивость к неблагоприятным факторам внешней среды, в том числе и к УФ-излучению, и рост стабилизируется. Наиболее четко эти механизмы проявляются у *P. chrysogenum* – чем выше доза УФ, тем ближе по

своим показателям на 10–14 сутки рост мицелия в опыте к контрольным данным.

3.2.7.2. Действие ультрафиолетового излучения

на экзопероксидазы и экзокаталазы грибов

Alternaria alternata и *Aspergillus niger*

Нами оценивалось изменение активности экзокаталазы и экзопероксидазы в культуральной жидкости у *A. alternata* и *A. niger* на 3, 5 и 10 сутки после однократного воздействия ультрафиолетового излучения (доза 60 мДж/см²). Полученные результаты представлены в виде диаграмм (см. рис. 3.30–3.33).

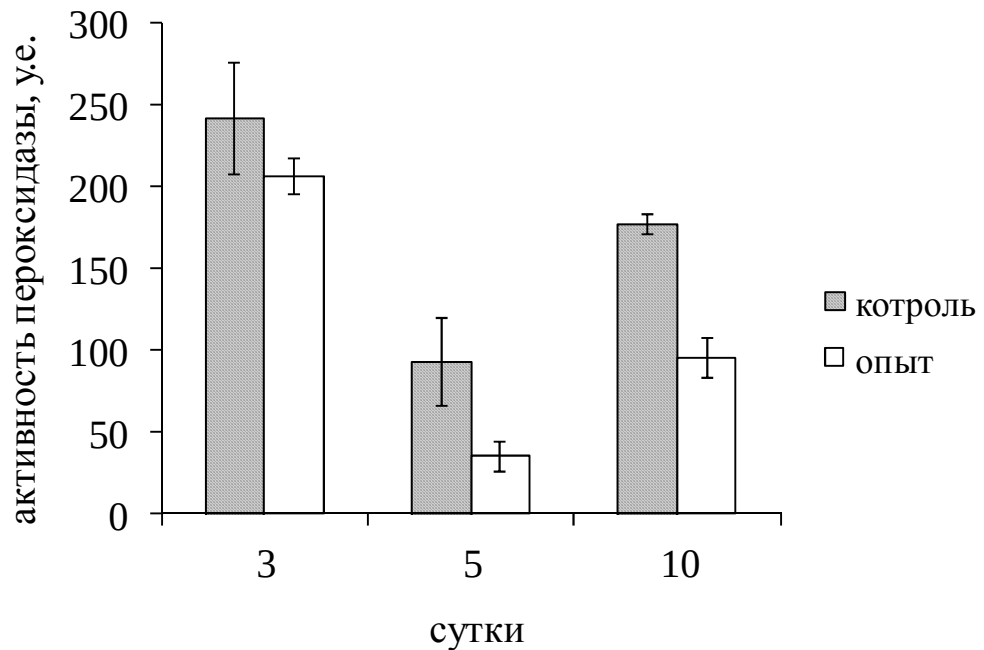


Рис 3.30. Динамика активности пероксидазы *A. alternata* при воздействии УФ в дозе 60 мДж/см²

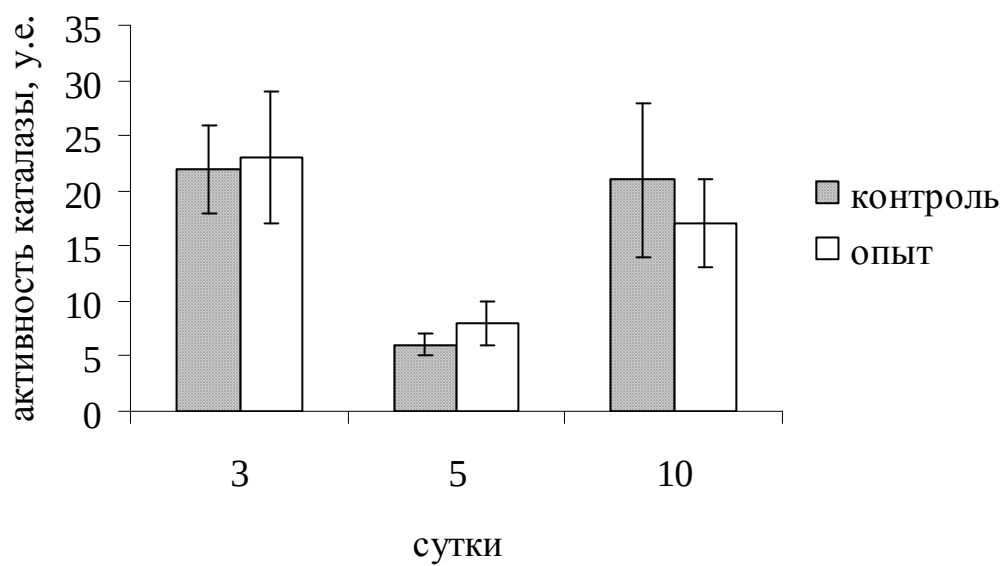


Рис. 3.31. Динамика активности каталазы *A. alternata* при воздействии
УФ в дозе 60 мДж/см²

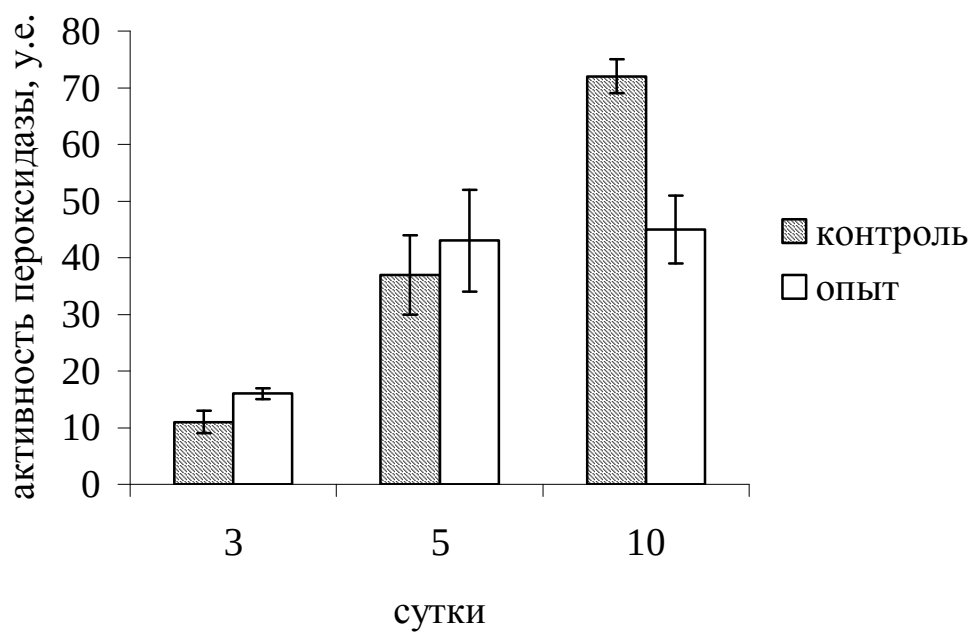


Рис. 3.32. Динамика активности пероксидазы *A. niger* при воздействии
УФ в дозе 60 мДж/см²

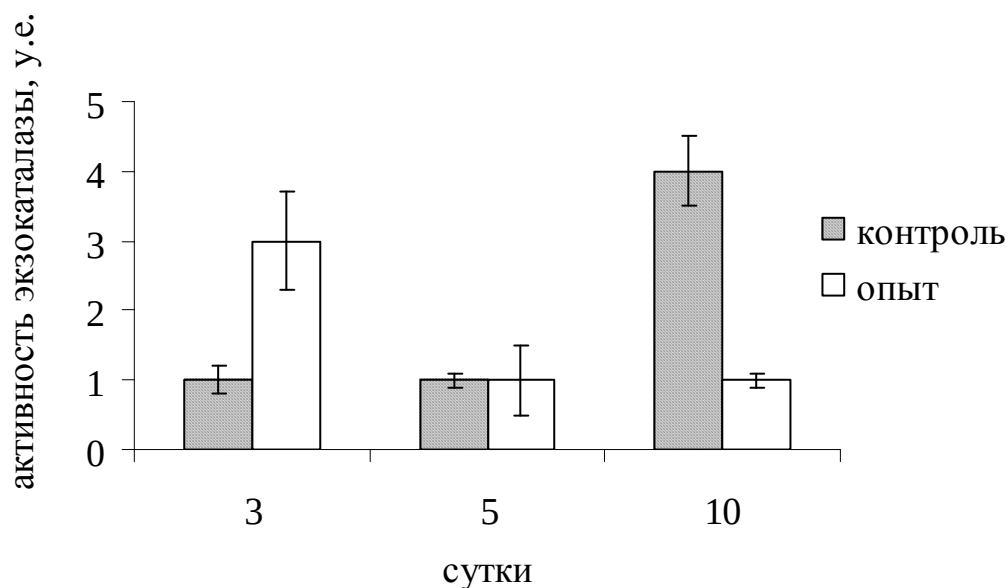


Рис. 3.33. Динамика активности каталазы *A. niger* при воздействии УФ в дозе 60 мДж/см²

Анализ полученных данных показывает, что достоверного по отношению к контролю изменения активности экзокаталазы у *Alternaria alternata* под действием УФ не наблюдается. Активность же экзопероксидазы на 5 и 10 сутки культивирования в опыте снижена. Следовательно, УФ способно подавлять продукцию экзопероксидазы у *Alternaria alternata*.

Под действием УФ активность экзокаталазы *Aspergillus niger* существенно возрастает на 3 сутки, а на 10 сутки она значительно ниже, чем в контроле. Активность экзопероксидазы на 3 сутки культивирования в опыте незначительно возрастает, а на 10 сутки значительно снижается в сравнении с контролем.

Анализируя данные можно утверждать, что *Aspergillus niger* на начальных этапах культивирования отвечает активизацией экзокаталазы и экзопероксидазы на УФ-облучение своих зародышевых структур, затем на 10 сутки активность ферментов снижается, тогда как в контроле наблюдается

прямо противоположная динамика. Можно предположить, что УФ-облучение способно стимулировать выработку экзооксидоредуктаз у *Aspergillus niger*.

Также нами изучалось изменение активности экзопероксидазы и экзокаталазы мицелия гриба *A. niger* после однократного воздействия ультрафиолета в дозе 60 мДж/см². Для этого гриб культивировали в жидкой среде Чапека-Докса в течение 7 суток, затем пеллеты мицелия отфильтровывали, подвергали воздействию УФ, после чего пеллеты помещали в жидкую среду Чапека-Докса и культивировали в течение 10 дней, на 3, 5 и 10 сутки культивирования проводили определение экзооксидоредуктаз в культуральной жидкости. Результаты данного эксперимента представлены на рисунках 3.34 и 3.35.

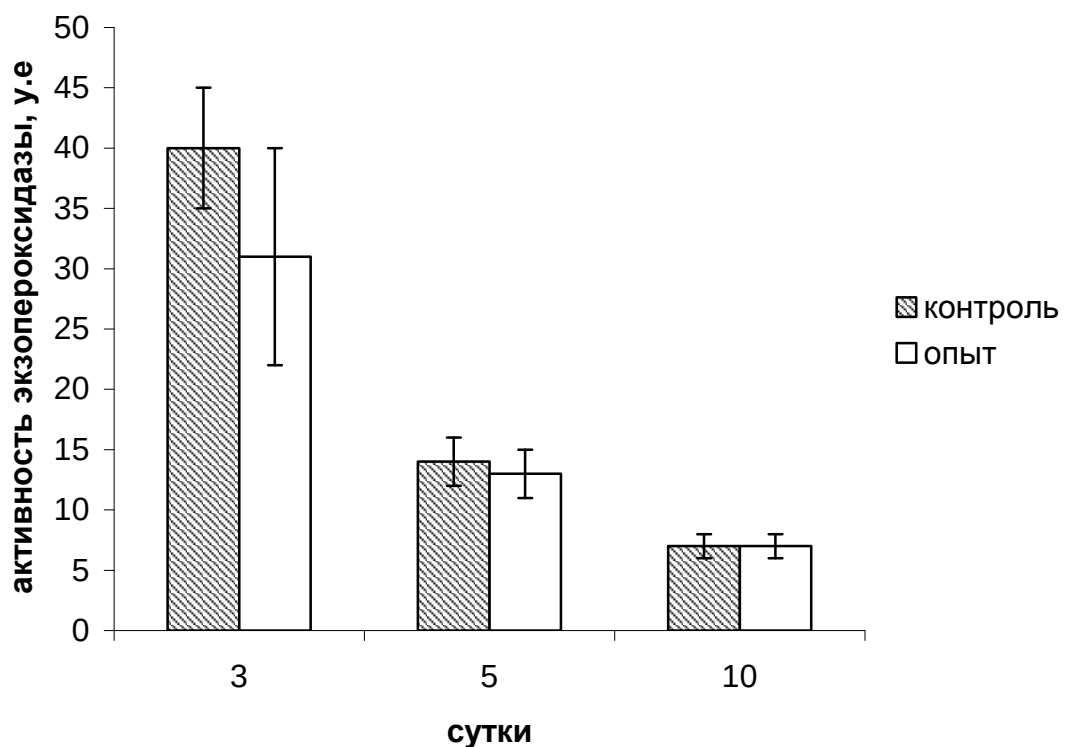


Рис. 3.34. Динамика активности экзопероксидазы *A. niger* при воздействии УФ в дозе 60 мДж/см² на мицелий

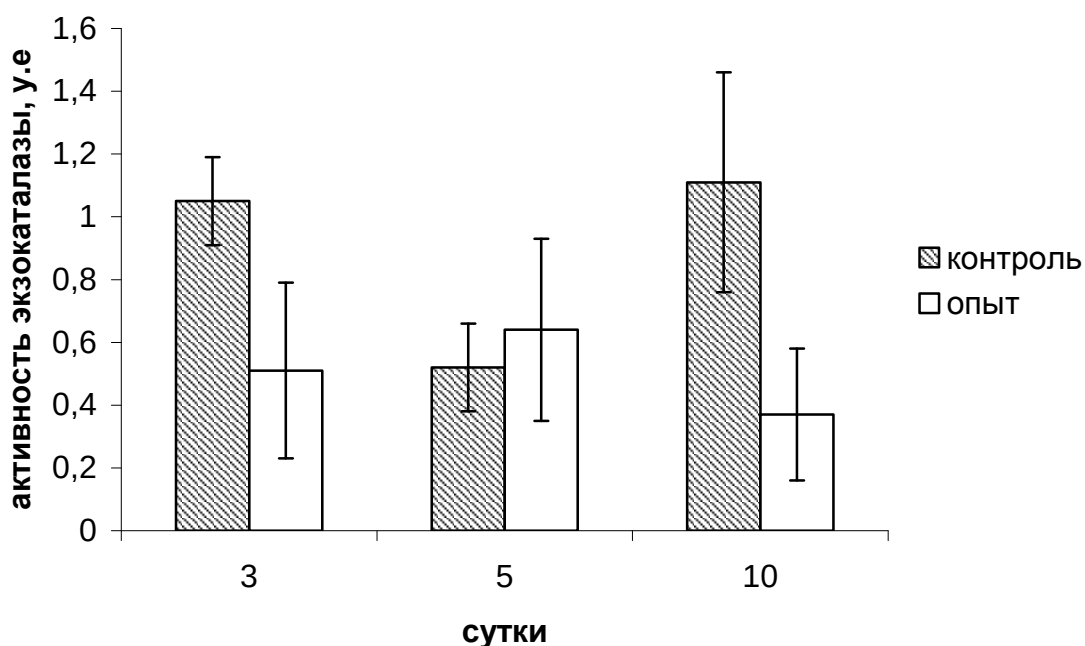


Рис. 3.35. Динамика активности экзокаталазы *A. niger* при воздействии УФ в дозе 60 мДж/см² на мицелий

При воздействии ультрафиолета на мицелий *Aspergillus niger* достоверного изменения активности экзопероксидазы не наблюдается. На 3 и 10 сутки в опыте отмечается достоверное снижение активности экзокаталазы.

Сравнение результатов изменения экзooksидоредуктазной активности при воздействии УФ на пропагулы и мицелий микромицетов показывает, что динамика активности экзопероксидаз и экзокаталаз у мицелия и пропагул одинаковая, что позволяет нам высказать предположение, что механизмы устойчивости и адаптации к действию УФ у пропагул и у мицелия микромицетов отличаются друг от друга незначительно. Воздействие УФ подавляет активность экзокаталазы на раннем и заключительном этапах культивирования. Следовательно, имеет место адаптация (путем изменения активности ферментативного аппарата) микромицетов к воздействию неблагоприятных для них физических факторов и именно адаптационные возможности позволяют им, подвергнувшись такому воздействию,

восстанавливать нормальный уровень своих физиолого-биохимических функций.

3.2.7.3. Действие низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты, миллиметрового диапазона (ЭМИ КВЧ) с различными частотно-волновыми характеристиками на жизнедеятельность микроицетов-биодеструкторов

К настоящему времени накоплено достаточно большое количество фактического материала, свидетельствующего о значимом терапевтическом эффекте излучения миллиметрового диапазона, крайне высокой частоты и низкой интенсивности (КВЧ-излучения) при многих заболеваниях человека (Балчугов и др., 2002). Однако, несмотря на множество работ о положительном эффекте применения КВЧ-терапии в медицинской практике, публикации посвященные исследованию воздействия КВЧ-излучения на различные микроорганизмы немногочисленны, и многие из них носят лишь фактологический характер (Егоров и др., 1981; Останенков, 1981). Подобная ситуация сдерживает использование КВЧ-излучения в практической реализации современных экологических биотехнологий.

Анализ литературных данных показывает, что имеются крайне немногочисленные сведения о влиянии КВЧ-излучения на микроорганизмы причем в источниках описывается как стимулирующее (Девятков и др., 1991; Астраханцева и др., 2004), так и негативное действие (Егоров и др., 1981; Шаб, 1995; Гапеев А.Б., Чемерис Н.К., 1999) однако сведения о биоцидном действии данного излучения на микроскопические грибы практически отсутствуют.

В связи с этим целью следующего этапа нашего исследования было изучение воздействия КВЧ-излучения на микроскопические грибы. Реализация данной цели кроме фундаментального аспекта, – накопления фактического материала и создания концепции механизмов действия КВЧ-излучения на рост, развитие и метаболизм микроорганизмов, – может помочь

решить и важнейшую прикладную задачу современной экобиотехнологии – предотвращение развития биоповреждений.

На первом этапе работ данного раздела нами проводилось изучение фунгицидных свойств (в аспекте воздействия на зародышевые структуры) КВЧ-излучения с различными частотно-волновыми характеристиками. Результаты экспериментов по воздействию различных видов КВЧ-излучения в течение 5 часов на суспензию пропагул *Alt. alternata* и *P. chrysogenum* представлены в таблице 3.40. Результаты данных экспериментов показали наличие негативного действия КВЧ-излучения на жизнеспособность пропагул тест-культур микромицетов. Причём наиболее эффективным в инактивации пропагул грибов проявил себя излучатель № 1, генерирующий КВЧ-излучение с широкополосным шумовым спектром Ганна, который вызывал гибель не менее 50 % КОЕ у обоих тест-культур. Следует также отметить, что излучатель № 5, генерирующий световое инфракрасное излучение, не оказывает никакого негативного воздействия на пропагулы исследованных микромицетов. Действие же излучателей № 2–4 следует считать недостаточно эффективным (величина ΔT у них колебалась в пределах от 7 до 25 % для *A. alternata* и от 19 до 45 % для *P. chrysogenum*).

На следующем этапе данного эксперимента мы подвергли воздействию КВЧ-излучения, генерируемого излучателем № 1, суспензии пропагул микромицетов *Aspergillus niger*, *Chaetomium globosum*, *Fusarium moniliforme* и ассоциативную культуру, составленную из равных объемов суспензий пропагул всех тест-культур. Часть приготовленной суспензии служила контролем (проводилась имитация облучения контактом с неработающим излучателем). Другая часть облучалась КВЧ-излучением. Во время облучения излучатель находился в непосредственном физическом контакте с биологическим объектом. Время облучения в экспериментах составило 5 часов, что в пересчете на дозу составляет 0,009 мДж/см². Итоговые результаты экспериментов по оценке фунгицидного действия КВЧ-излучения

с широкополосным шумовым спектром Ганна на пропагулы микромицетов-деструкторов представлены в таблице 3.41.

Как и в первом эксперименте, величина ΔT во всех случаях составила ~50%. Полученные результаты позволяют с уверенностью утверждать, что КВЧ излучение, генерируемое излучателем № 1, способно вызывать гибель значительных количеств пропагул микромицетов-деструкторов.

Также представляло интерес исследовать рост мицелия *Alt. alternata* и *P. chrysogenum*, развивающегося из спор, облученных КВЧ-излучением шумового спектра в течение 3 часов.

Результаты экспериментов по воздействию КВЧ-излучения (излучатель № 1) на пропагулы микромицетов *Alt. alternata* и *P. chrysogenum*, высеянные на поверхность агаризованной среды, представлены в таблицах 3.42 и 3.43.

Из таблиц видно, что максимальное торможение роста у гриба *Alternaria alternata* наблюдалось на третьи сутки, затем степень ингибирования снижалась; аналогичная картина наблюдалась и в случае с *Penicillium chrysogenum*; более значительное подавление роста на третьи – пятые сутки наблюдалось у *P. chrysogenum*. Снижение ингибирующего эффекта КВЧ на рост грибов с течением времени, на наш взгляд, может быть связано с тем, что в процессе развития и роста у грибов могут начать функционировать некие компенсаторные механизмы, противодействующие негативному воздействию КВЧ-излучения. Также необходимо отметить, что у *P. chrysogenum*, облучённого КВЧ-излучением в течение трёх часов наблюдалось отставание в развитии мицелия, в частности процесс спороношения наступал значительно позднее чем в контрольном варианте (рисунок 3.36), что также подтверждает факт негативного воздействия данного излучения.

Также результаты этого эксперимента показали, что излучатель № 1 проявил себя как наиболее универсальный – способный примерно в равной степени ингибировать рост как светло- так и тёмноокрашенных культур (от 72 до 85%). В отличие от излучателей № 2–4, достаточно хорошо

инактивирующих мицелий *Penicillium chrysogenum* (52–89%), но не оказывающих существенного ингибирующего влияния на мицелий *Alternaria alternata*, а даже напротив стимулирующих его рост (87–107%). Следует отметить, что также как и в первом опыте, излучатель № 5 не оказывал никакого достоверно регистрируемого влияния на рост мицелия тест-культур микромицетов.

Таблица 3.40

Изменение титра пропагул микромицетов при воздействии различных видов КВЧ-излучения

Вид гриба	КОЕ/мл														
	излучатель № 1 38 – 78 ГГц			излучатель № 2 40 – 43 ГГц			излучатель № 3 52 – 57 ГГц			излучатель № 4 57 – 63 ГГц			излучатель № 5 153 – 458 ТГц		
	контроль	опыт	ΔT %	контроль	опыт	ΔT %	контроль	опыт	ΔT %	контроль	опыт	ΔT %	контроль	опыт	ΔT %
<i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler	37±2	14±3	62	14±4	13±4	7	54±3	52±7	4	51±3	38±5	25	43±2	43±3	0
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	24±4	12±4	50	73±5	54±5	26	115±9	63±7	45	62±9	50±5	19	64±5	63±4	2

Таблица 3.41

Изменение титра пропагул микромицетов при воздействии КВЧ-излучения шумового спектра, доза 0,009 мДж/см²

Вид гриба	КОЕ/мл		
	контроль	опыт	ΔТ, %
<i>Alternaria alternata</i>	37±2	14±3	62
<i>Aspergillus niger</i>	25±2	12±3	52
<i>Chaetomium globosum</i>	49±2	23±2	53
<i>Fusarium moniliforme</i>	74±5	33±1	55
<i>Penicillium chrysogenum</i>	24±4	12±4	50
ассоциативная культура	168±3	86±3	49

Таблица 3.42

Рост мицелия *Alternaria alternata*, развивающегося из пропагул, облученных различными видами КВЧ-излучения

Время, сутки	Диаметр колоний, мм														
	излучатель № 1 38 – 78 ГГц			излучатель № 2 40 – 43 ГГц			излучатель № 3 52 – 57 ГГц			излучатель № 4 57 – 63 ГГц			излучатель № 5 153 – 458 ТГц		
	контроль	опыт	ΔR %	контроль	опыт	ΔR %	контроль	опыт	ΔR %	контроль	опыт	ΔR %	контроль	опыт	ΔR %
3	18.0±4.7	13.0±0.0	72	11.0±1.0	10.0±1.0	91	32.0±1.7	27.7±1.5	87	20.3±1.2	21.7±0.6	107	20.7±0.6	19.0±2.6	92
5	34.8±3.9	25.7±0.6	74	37.0±2.3	36.0±1.7	97	39.7±1.2	36.0±2.0	91	38.3±1.2	40.7±1.2	106	37.0±1.0	37.7±1.5	102
7	55.0±2.8	53.3±0.6	97	55.0±1.5	54.0±1.7	98	56.0±1.0	55.3±1.5	99	46.0±1.0	47.3±1.0	103	64.0±2.6	63.0±3.6	98
10	73.7±2.0	71.3±5.1	97	64.3±2.0	62.7±2.1	98	78.0±6.6	82.3±1.5	106	76.3±1.2	76.3±4.6	100	75.0±0.0	74.6±4.0	99
14	81.4±2.2	79.7±0.6	98	88.5±2.7	86.5±2.6	98	78.7±4.7	85.0±1.0	108	82.0±1.0	82.0±2.6	100	81.3±2.5	82.0±1.0	101

Таблица 3.43

Рост мицелия *Penicillium chrysogenum*, развивающегося из пропагул, облученных различными видами КВЧ-излучения

Время, сутки	Диаметр колоний, мм														
	излучатель № 1 38 – 78 ГГц			излучатель № 2 40 – 43 ГГц			излучатель № 3 52 – 57 ГГц			излучатель № 4 57 – 63 ГГц			излучатель № 5 153 – 458 ТГц		
	контроль	опыт	ΔR %	контроль	опыт	ΔR %	контроль	опыт	ΔR %	контроль	опыт	ΔR %	контроль	опыт	ΔR %
3	8.0±1.0	6.0±1.0	75	6.3±1.5	3.3±0.5	52	22.0±5.0	16.0±2.6	72	13.0±1.0	9.0±1.7	69	11.3±1.5	11.3±0.6	100
5	26.0±1.8	22.7±1.2	87	22.3±1.5	16.0±1.7	72	28.3±5.5	21.0±1.0	74	24.0±0.0	21.3±1.5	89	21.0±1.0	20.7±1.2	99
7	32.3±7.7	28.8±5.2	89	31.7±1.5	25.0±1.0	79	39.0±4.6	33.7±1.2	86	28.0±1.0	26.3±1.5	94	34.3±5.1	34.0±6.1	99
10	38.5±6.0	34.5±6.3	90	34.7±1.5	27.0±1.0	78	60.3±4.0	52.3±2.1	87	52.0±2.0	48.7±0.6	94	43.0±6.2	42.3±3.5	98
14	58.0±6.2	60.3±5.6	104	49.3±4.7	47.0±6.9	95	64.3±6.1	58.7±4.7	91	61.7±2.1	60.3±3.1	98	53.3±8.5	53.3±1.5	100



Рис. 3.36. Подавление спорообразования у *Penicillium chrysogenum* при облучении КВЧ

На следующем этапе исследования роста мицелия, развивающегося из облученных КВЧ мы увеличили время воздействия излучением, генерируемым излучателем № 1, до 5 часов (т.е. в пересчете на дозу 0,009 мДж/см²). Результаты данных опытов представлены в таблице 3.44.

Рост мицелия микромицетов, развивающегося из пропагул, облученных
КВЧ (доза 0,009 мДж/см²)

Вид гриба	Время, сутки	Диаметр колоний, мм		
		контроль	опыт	ΔR %
<i>Alternaria alternata</i>	3	18,0±0,0	16,7±1,5	93
	5	31,7±1,5	29,7±1,5	94
	7	48,0±2,6	46,7±0,6	97
	10	67,3±2,9	67,3±0,6	100
	14	80,7±1,5	81,3±1,5	101
<i>Aspergillus niger</i>	3	47,0±2,0	35,7±3,8	76
	5	90,0±0,0	88,3±2,1	98
	7	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	10	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	14	90,0±0,0	90,0±0,0	100
<i>Chaetomium globosum</i>	3	12,7±3,5	3,3±1,2	26
	5	33,3±7,5	32,3±5,8	97
	7	42,3±2,3	40,3±3,7	95
	10	65,7±7,9	62,3±3,7	95
	14	70,0±4,6	68,7±7,6	98
<i>Fusarium moniliforme</i>	3	21,3±2,3	16,3±0,6	77
	5	48,0±4,4	41,7±1,5	87
	7	57,3±4,2	50,3±1,2	88
	10	78,7±3,2	78,3±0,6	99
	14	83,0±2,6	81,3±2,1	98
<i>Penicillium chrysogenum</i>	3	19,0±1,4	13,7±1,2	72
	5	29,5±2,1	21,0±1,0	71
	7	42,5±3,5	30,3±1,5	71
	10	50,5±2,1	41,7±3,8	83
	14	70,5±2,1	58,0±1,0	82

Результаты данного эксперимента показывают, что КВЧ-излучение, генерируемое излучателем № 1, вызывает определенную задержку в росте мицелия на третьи сутки культивирования у всех исследованных микромицетов, кроме *A. alternata*.

Обобщая результаты всех вышеописанных экспериментов, мы можем утверждать, что КВЧ-излучение, генерируемое излучателем № 1, способно не только вызывать гибель зародышевых структур микромицетов-деструкторов, но и оказывать негативное влияние на процесс роста и развития грибного мицелия из облученных пропагул.

Также представляло интерес изучить действие КВЧ-излучения на рост вегетативного мицелия микромицетов-деструкторов. В данном эксперименте нами использовался излучатель № 1, проявивший себя как наиболее действенный.

Результаты эксперимента по воздействию КВЧ-излучения на мицелий тест-культур представлены в таблице 3.45.

Воздействие КВЧ-излучения (доза 0,009 мДж/см²)
на мицелий микромицетов

Вид гриба	Время, сутки	Диаметр колоний, мм		
		контроль	опыт	ΔR %
<i>Alternaria alternata</i>	5	31,7±0,6	28,7±1,5	91
	7	55,3±0,6	51,0±1,7	92
	10	70,7±1,5	66,0±2,0	93
	14	82,7±0,6	82,7±1,5	100
<i>Aspergillus niger</i>	5	45,5±0,7	42,7±1,2	94
	7	90,0±0,0	85,3±5,0	95
	10	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	14	90,0±0,0	90,0±0,0	100
<i>Chaetomium globosum</i>	5	20,0±2,6	13,0±1,9	65
	7	31,0±2,3	22,0±1,0	71
	10	34,3±8,7	32,5±3,5	95
	14	74,7±7,2	74,3±3,7	99
<i>Fusarium moniliforme</i>	5	30,7±1,5	28,0±3,0	91
	7	58,0±3,0	54,5±3,5	94
	10	72,7±3,8	70,5±0,7	97
	14	78,7±3,1	76,5±2,1	97
<i>Penicillium chrysogenum</i>	5	22,3±2,1	21,7±0,6	97
	7	35,3±3,1	34,3±3,5	97
	10	44,0±1,0	42,7±2,3	97
	14	71,5±3,5	69,3±5,8	97

Полученные результаты показывают, что КВЧ-излучение практически не влияет (за исключением ингибирования роста мицелия *Chaetomium globosum* на 35 и 29% на 5 и 7 сутки культивирования) на жизнедеятельность вегетативного мицелия тест-культур микромицетов.

Подобное различие в характере действия КВЧ-излучения на propagулы и мицелий микромицетов вызвало у нас вопрос о механизмах, реализующих биологические эффекты миллиметровых волн у микромицетов. Из литературных данных известно, что многие эффекты КВЧ-излучения связаны с его влиянием на ДНК клетки (Гусев, 1989; Шестопалова, 1999). В тоже время, – как один из механизмов резистентности микромицетов, – описано явление гетеро кариоза (Звягинцев, 1973). Именно этой уникальной особенностью микроскопических грибов, на наш взгляд, и можно объяснить вышеописанные нами эффекты КВЧ-излучения, – у гомокариотических propagул (спор) микромицетов оно ингибирует репаративные процессы в клетках при прорастании спор, тогда как генетически разнородные ядра гетерокариотического мицелия оказываются устойчивыми к подобному воздействию.

В качестве второго вероятного механизма воздействия КВЧ-излучения на биосистемы ряд авторов называет особую роль системы «миллиметровые волны – водная среда» (Синицын и др., 1999; Кожокару и др., 2006).

С целью проверки особой роли воды в воздействии миллиметровых волн на мицелий микромицетов нами был проведен следующий эксперимент: 2 мл. суспензии спор тест-культур микромицетов инокулировались колбы, содержащие 250 мл. полной жидкой питательной среды Чапека-Докса, колбы помещались на качалки и в течение 7 суток проводилось культивирование мицелия; затем пеллеты мицелия отфильтровывались и опытные частицы мицелия облучались полностью погруженными в стерильную дистиллированную воду КВЧ-излучателем № 1, излучатель находился в герметично застегнутом стерильном двойном полиэтиленовом пакете, время экспозиции в данном эксперименте было 5 часов, что в пересчете на дозу

составило 0,009 мДж/см² в контроле проводилась имитация облучения контактом с неработающим излучателем, затем контрольные и опытные частицы мицелия высаживалась на плотную питательную среду в чашки Петри и в течение 14 суток проводилось измерение диаметров развивающихся колоний. Результаты данного эксперимента представлены в таблице 3.46.

Таблица 3.46

Воздействие КВЧ-излучения (доза 0,009 мДж/см²) в водной среде
на мицелий микромицетов

Вид гриба	Время, сутки	Диаметр колоний, мм		
		контроль	опыт	ΔR %
<i>Alternaria alternata</i>	3	40,3±1,5	32,0±4,6	79
	5	64,0±3,6	55,0±5,3	86
	7	76,0±10,0	69,7±6,4	92
	10	84,0±4,2	80,3±3,5	96
	14	85,5±2,1	82,0±3,6	96
<i>Aspergillus niger</i>	3	53,7±3,5	41,3±1,2	77
	5	90,0±0,0	80,3±2,5	89
	7	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	10	90,0±0,0	90,0±0,0	100
	14	90,0±0,0	90,0±0,0	100
<i>Chaetomium globosum</i>	3	15,7±1,5	10,7±0,6	68
	5	26,3±2,1	18,7±2,1	71
	7	43,5±2,1	34,0±2,0	78
	10	44,0±1,7	36,7±4,5	83
	14	50,5±6,4	48,7±5,1	96
<i>Fusarium moniliforme</i>	3	30,7±4,0	24,3±3,2	79
	5	41,7±3,1	33,7±2,5	81
	7	84,3±5,1	73,3±2,5	87
	10	85,7±4,5	75,0±2,0	88
	14	86,0±3,6	76,3±3,2	89
<i>Penicillium chrysogenum</i>	3	26,3±2,3	17,3±1,5	66
	5	40,7±2,9	29,0±1,7	71
	7	65,0±8,4	50,7±1,5	78
	10	71,3±2,1	56,7±8,6	80
	14	80,7±6,7	71,0±3,6	88

Сравнение результатов действия КВЧ-излучения на мицелий микромицетов в водной среде (табл. 3.46) с результатами аналогичного действия в воздушной среде (табл. 3.45) показывает, что практически все тест-культуры за исключением *A. niger* характеризуются большей чувствительностью к ингибирующему действию КВЧ-излучения в водной среде, что проявляется в меньшем по сравнению с контролем росте, особенно хорошо это прослеживается на культурах *F. moniliforme* и *P. chrysogenum*, у которых даже на 14 сутки культивирования рост составляет 89 и 88% к контролю соответственно.

Полученные результаты позволяют нам утверждать, что в реализации негативных эффектов влияния КВЧ-излучения на физиологическую активность микромицетов ключевая роль принадлежит именно водной среде.

Проведенные нами эксперименты по изучению воздействия ЭМИ КВЧ на propagулы и мицелий микромицетов конкретизируют представления о возможных путях его восприятия микроорганизмами. Открытие Н.И. Сеницыным и др. в 1998 г. у водных кластеров собственных резонансных частот в диапазоне 50–70 ГГц (50.3, 51.8, 64.5 и 65.5 ГГц) во многом объясняет высокую чувствительность мицелия и зародышевых структур микромицетов к воздействиям ЭМИ КВЧ. В частности, максимальный тест-отклик организмов-гидробионтов в экспериментах Сеницына и сотр. был зафиксирован на частоте 65 ГГц при ППЭ 120 мкВт/см² и времени облучения 15 мин, что является подтверждением механизма водозлектрического эффекта и структуризации тонкого водосодержащего слоя, согласно которому первичной мишенью при воздействии ЭМИ КВЧ на биологические системы являются молекулы примембранной воды (Сеницын и др. 1999).

Воздействие ЭМИ КВЧ на тонкий структурированный водных слой приводит к диссоциации молекул воды на противоположно заряженные ионы H^+ и OH^- . Энергия волны преобразуется в кинетическую молекул. В результате появляются кластеры с нехарактерным для чистой воды размером. Такие молекулы воды играют принципиальную роль в гидратации белковых

молекул биологических мембран, переводя их в иное функциональное состояние. Далее срабатывают механизмы, запускающие биохимические реакции, за которые отвечают белковые молекулы. Таким образом, изменение кластерной структуры воды приводит к изменению биологической активности клетки и, как следствие, энергетического ее потенциала. Реакция системы здесь определяется величиной скорости генерации энтропии в системе, испытывающей воздействие. Однако наличие жесткой клеточной оболочки в грибных клетках приводит к более медленному вовлечению электромагнитных волн через молекулы воды в основные процессы жизнедеятельности, поэтому изменение физиологических показателей происходит при длительном воздействии ЭМИ КВЧ, что проявляется в задержке роста мицелия и появлении нежизнеспособных спор.

Чтобы окончательно подтвердить данное утверждение нами был поставлен следующий опыт: вегетативный неспороносящий мицелий культур *Alternaria alternata* и *Penicillium chrysogenum* в воздушной среде облучался КВЧ-излучением, генерируемым излучателем № 1 в течение 3 часов (что в пересчете на дозу составило $0,0054 \text{ мДж/см}^2$). Результаты данного эксперимента представлены в таблице 3.47.

Таблица 3.47

Воздействие КВЧ-излучения (доза $0,0054 \text{ мДж/см}^2$)
на мицелий микромицетов

Вид гриба	Время, сутки	Диаметр колоний, мм		
		контроль	опыт	$\Delta R \%$
<i>Alternaria alternata</i>	5	$58,0 \pm 1,7$	$60,7 \pm 0,6$	105
	7	$75,3 \pm 1,2$	$76,7 \pm 2,3$	102
	10	$77,3 \pm 0,6$	$78,7 \pm 1,5$	102
	14	$82,0 \pm 2,6$	$84,0 \pm 0,6$	102
<i>Penicillium chrysogenum</i>	5	$38,0 \pm 3,6$	$39,3 \pm 3,1$	103
	7	$47,7 \pm 4,2$	$49,7 \pm 6,7$	104
	10	$49,0 \pm 1,0$	$53,7 \pm 1,2$	110
	14	$49,3 \pm 3,2$	$54,0 \pm 1,5$	110

Как видно из данной таблицы воздействие КВЧ-излучением в воздушной среде на мицелий микромицетов в дозе 0,0054 мДж/см², т.е. в существенно меньшей, чем в предыдущих экспериментах, вызывает совершенно иной биологический эффект – имеет место стимуляция роста мицелия.

Известно, что наибольшей активностью в плане биоповреждающих свойств обладают микромицеты. Поэтому для нас представляло интерес выявить дозу КВЧ-излучения шумового спектра, максимально эффективно инактивирующую их пропагулы.

Для этого нами проводилось изучение зависимости эффективности ингибирующего действия КВЧ-излучения на зародышевые структуры микромицетов от его дозы. Доза излучения была увеличена нами за счет увеличения количества генераторов, одновременно воздействующих на суспензию пропагул. В качестве объектов испытаний были взяты два вида микромицетов: *Alternaria alternata* и *Penicillium chrysogenum*.

Результаты эксперимента по воздействию КВЧ-излучения в различных дозах на водные суспензии пропагул тест-культур представлены на рисунке 3.37.

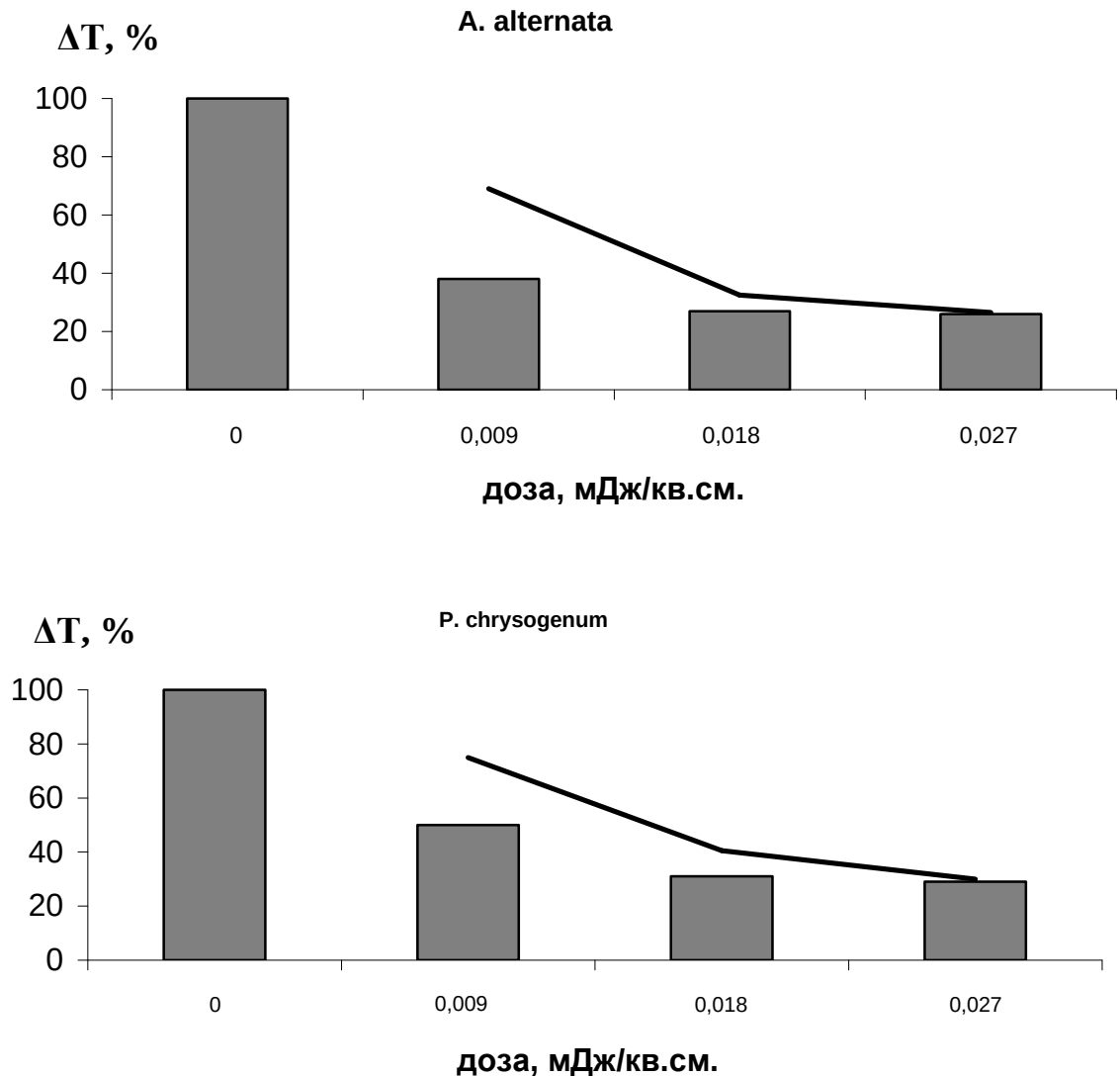


Рис. 3.37. Изменение титра КОЕ у *Alternaria alternata* и *Penicillium chrysogenum* при действии КВЧ-излучения в различных дозах

Анализ результатов показывает, что с увеличением дозы КВЧ-излучения в два раза возрастает и степень его фунгицидной активности, однако полной инактивации всех пропагул не происходит. Трехкратное увеличение дозы не приводит к значительному росту его биоцидного действия. Следует также отметить неодинаковость действия КВЧ-излучения в дозе 0,027 мДж/см² на споры светло- и темноокрашенных грибов: титр жизнеспособных КОЕ у *Alternaria alternata* при воздействии данной дозы уменьшился на 12% в сравнении с эффектом дозы 0,009 мДж/см²; тогда как у *Penicillium chrysogenum* этот показатель снизился на 21%. Объяснить

подобный феномен, с нашей точки зрения, можно наличием у *A. alternata* пигмента меланина.

В дальнейшем нами оценивалось действие дозы КВЧ-излучения 0,018 мДж/см² на другие тест-культуры микромицетов, а также на их ассоциативную культуру. Результаты данного эксперимента представлены в таблице 3.48.

Таблица 3.48

Воздействие КВЧ-излучения в дозе 0,018 мДж/см² на монокультуры микромицетов и их ассоциативную культуру

Вид гриба	КОЕ/мл		
	контроль	опыт	ΔТ %
<i>Alternaria alternata</i>	26±6	7±1	73
<i>Aspergillus niger</i>	78±7	29±9	63
<i>Chaetomium globosum</i>	8±2	1±1	88
<i>Fusarium moniliforme</i>	118±12	41±4	65
<i>Penicillium chrysogenum</i>	165±5	51±3	69
ассоциативная культура	118±11	46±3	61

Как видно из данных таблицы КВЧ-излучение в дозе 0,018 мДж/см² оказывает довольно высокое биоцидное действие на propagулы микромицетов: от 63 до 88%, причем подобный эффект наблюдается как в монокультурах, так и в ассоциативной культуре: 61%.

Сравнение результатов воздействия на тест-культуры КВЧ-излучением в дозе 0,009 мДж/см² и 0,018 мДж/см² (таблица 3.49) позволяет нам утверждать, что увеличение дозы КВЧ-излучения до 0,018 мДж/см² увеличивает степень инактивации КОЕ на ~10-30 %.

Таблица 3.49

Сравнительный анализ результатов действия на propagулы тест-культур микромицетов КВЧ излучения в различных дозах

Вид гриба	КОЕ/мл					
	0,009 мДж/см ²			0,018 мДж/см ²		
	контроль	опыт	ΔТ %	контроль	опыт	ΔТ %
<i>Alternaria alternata</i>	37±2	14±3	62	26±6	7±1	73
<i>Aspergillus niger</i>	25±2	12±3	52	78±7	29±9	63
<i>Chaetomium globosum</i>	49±2	23±2	53	8±2	1±1	88
<i>Fusarium moniliforme</i>	74±5	33±1	55	118±12	41±4	65
<i>Penicillium chrysogenum</i>	24±4	12±4	50	165±5	51±3	69
ассоциативная культура	168±3	86±3	49	118±11	46±3	61

Таким образом, нами было убедительно показано, что двукратное увеличение дозы КВЧ-излучения (до 0,018 мДж/см²) позволяет инактивировать около 70% титра КОЕ тест-культур микромицетов. В ходе наших экспериментов также было установлено, что дальнейшее увеличение мощности КВЧ-излучения будет малоэффективным, а, следовательно, и нецелесообразным.

Во многих публикациях указывается на значимость частотных параметров КВЧ-излучения в реализации его биологических эффектов (Девятков и др., 1991) – наличие особых резонансных частот, вызывающих наибольший физиологический отклик у биосистем.

Для проверки данного положения нами была проведена сравнительная оценка фунгицидного действия КВЧ-излучения, генерируемого прибором СЕМ-ТЕСН и аппаратом «АМФИТ». Частотный диапазон излучения, у излучателя прибора СЕМ-ТЕСН, использованного в данном эксперименте он составляет 38-78 ГГц, а у аппарата «АМФИТ» – 53,57-78,33 ГГц. Результаты данного эксперимента представлены в таблице 3.50.

Таблица 3.50

Сравнительная оценка фунгицидного действия на propagулы
микромицетов КВЧ-генераторов приборов СЕМ-ТЕСН и «АМФИТ»

Вид культуры	КОЕ/мл					
	СЕМ-ТЕСН частота 38,00-78,00 ГГц доза 0,009 мДж/см ²			«АМФИТ» частота 53,57-78,33 ГГц доза 9 мДж/см ²		
	контроль	опыт	ΔТ, %	контроль	опыт	ΔТ, %
<i>Alternaria alternata</i>	37±2	14±3	62	37±3	36±4	3
<i>Aspergillus niger</i>	25±2	12±3	52	96±17	72±20	25
<i>Chaetomium globosum</i>	49±2	23±2	53	34±6	16±6	53
<i>Fusarium moniliforme</i>	74±5	33±1	55	55±2	24±5	56
<i>Penicillium chrysogenum</i>	24±4	12±4	50	74±6	45±5	39
ассоциативная культура	168±3	86±3	49	109±3	79±10	28

Как видно из данных таблицы, – значительное увеличение дозы КВЧ-излучения с 0,009 до 9 мДж/см² (т.е. в 1000 раз!) существенно не увеличивает фунгицидное действие КВЧ-излучения ни в монокультурах, ни в ассоциативной культуре.

Тот факт, что КВЧ-излучение, генерируемое прибором СЕМ-ТЕСН вызывает значительно больший биологический эффект, чем КВЧ-излучение, генерируемое аппаратом «АМФИТ», несмотря на огромнейшую разницу в их экспозиционных дозах, позволяет предположить, что в фунгицидном

действии КВЧ-излучения существенную роль играет не только доза, но и частотный диапазон излучения, так у излучателя аппарата СЕМ-ТЕСН, использованного в данном эксперименте он составляет 38-78 ГГц, а у аппарата «АМФИТ» – 53,57-78,33 ГГц, то есть значительно уже.

Таким образом, по итогам всего сделанного нами на данной стадии исследований цикла экспериментальных работ можно сделать следующие заключения:

- Негативное действие КВЧ-излучения на микроорганизмы максимально проявляется только при определенных его частотно-волновых характеристиках, – у излучения шумового спектра (38-78 ГГц)
- Негативные биологические эффекты КВЧ-излучения у микроорганизмов максимально широко реализуются при воздействии излучения в водной среде
- Негативное действие КВЧ-излучения на микроорганизмы проявляется с пороговой дозы $0,009 \text{ мДж/см}^2$, а максимального эффекта достигает при дозе $0,018 \text{ мДж/см}^2$.

3.2.7.4. Действие ЭМИ КВЧ шумового спектра

на экзопероксидазы и экзокаталазы грибов

Alternaria alternata и *Aspergillus niger*

С целью изучения действия КВЧ-излучения на активность вышеуказанных экзоферментов готовилась по методике, описанной в разделе «Материалы и методы» суспензия зародышевых структур тест-культур микромицетов. При этом опытные варианты подвергались облучению КВЧ-излучением (доза $0,009 \text{ мДж/см}^2$), в контрольных образцах проводили имитацию облучения контактом с неработающим источником излучения. Измерения ферментативной активности проводили на 3, 5, 7 сутки культивирования.

Результаты биохимических экспериментов представлены на рисунках 3.38–3.41.

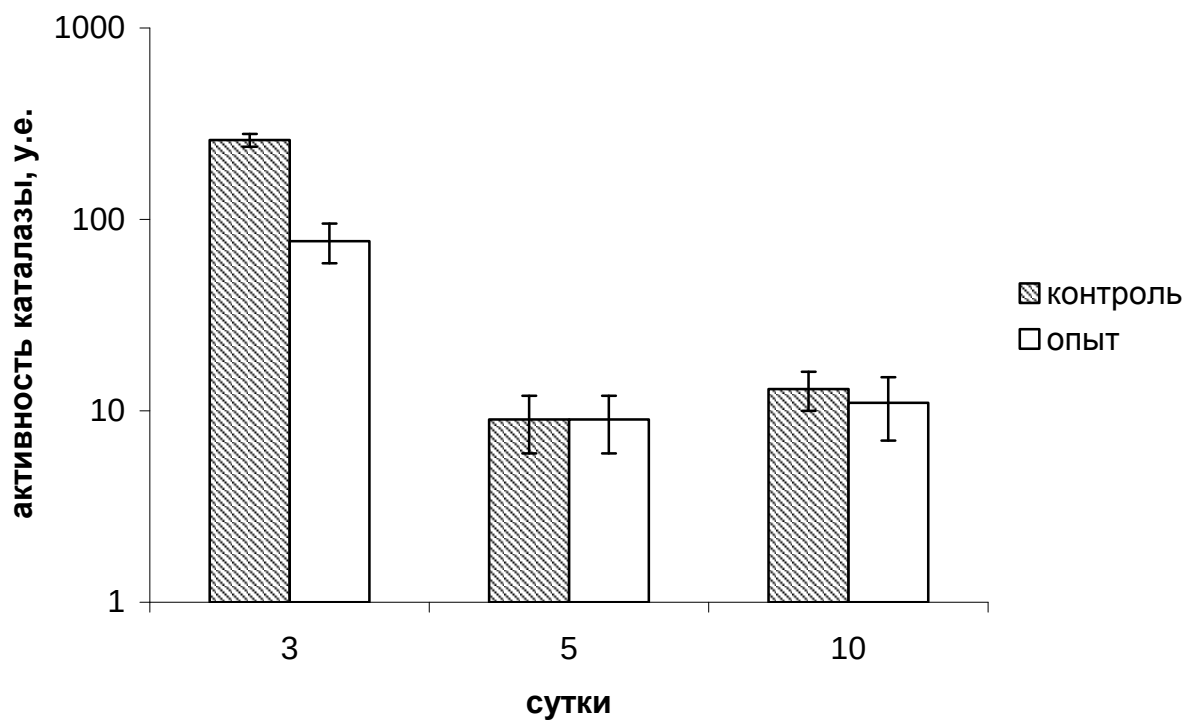


Рис. 3.38. Активность экзокаталазы *Alternaria alternata* при воздействии КВЧ-излучения в дозе 0,009 мДж/см²

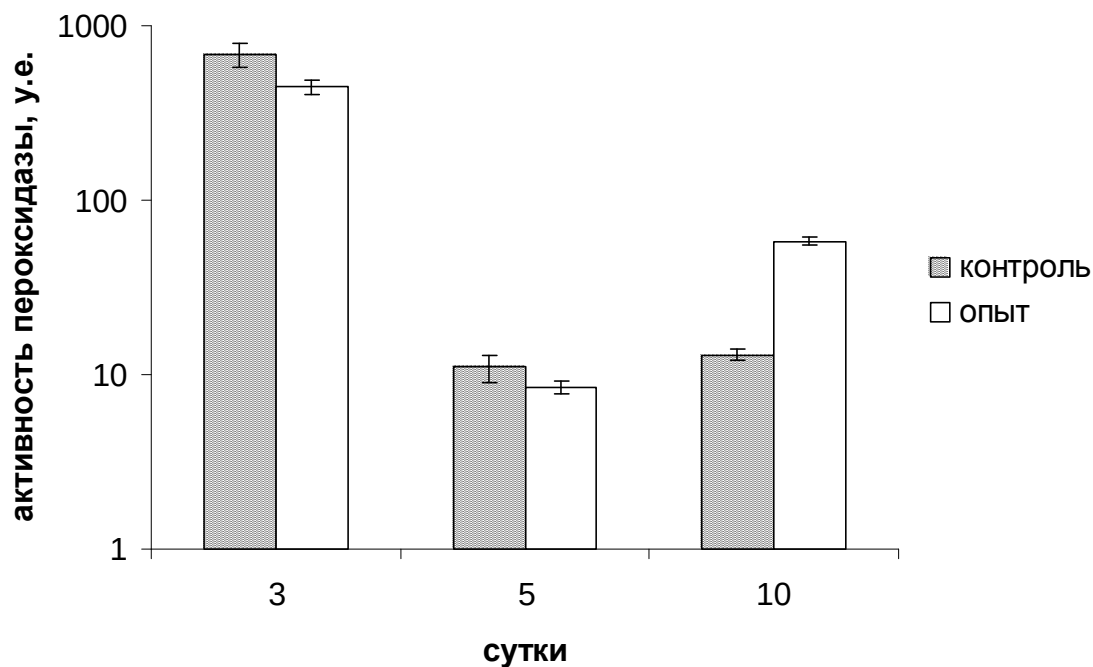


Рис. 3.39. Активность экзопероксидазы *Alternaria alternata* при воздействии КВЧ-излучения в дозе 0,009 мДж/см²

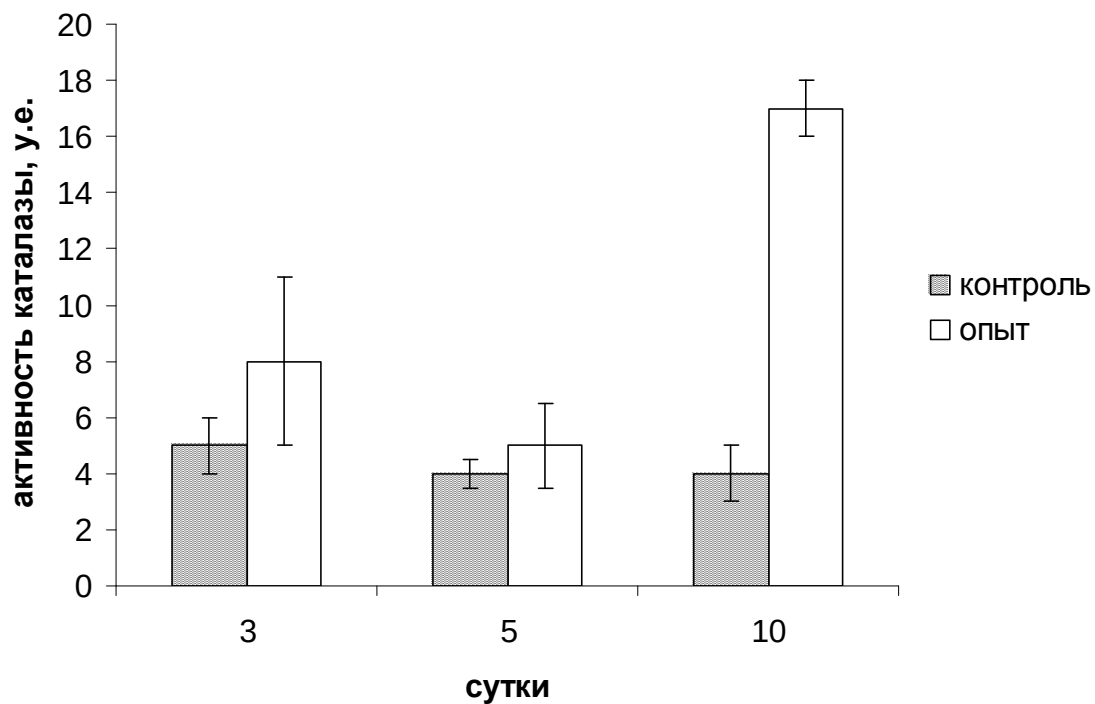


Рис. 3.40. Активность экзокаталазы *Aspergillus niger* при воздействии КВЧ-излучения в дозе 0,009 мДж/см²

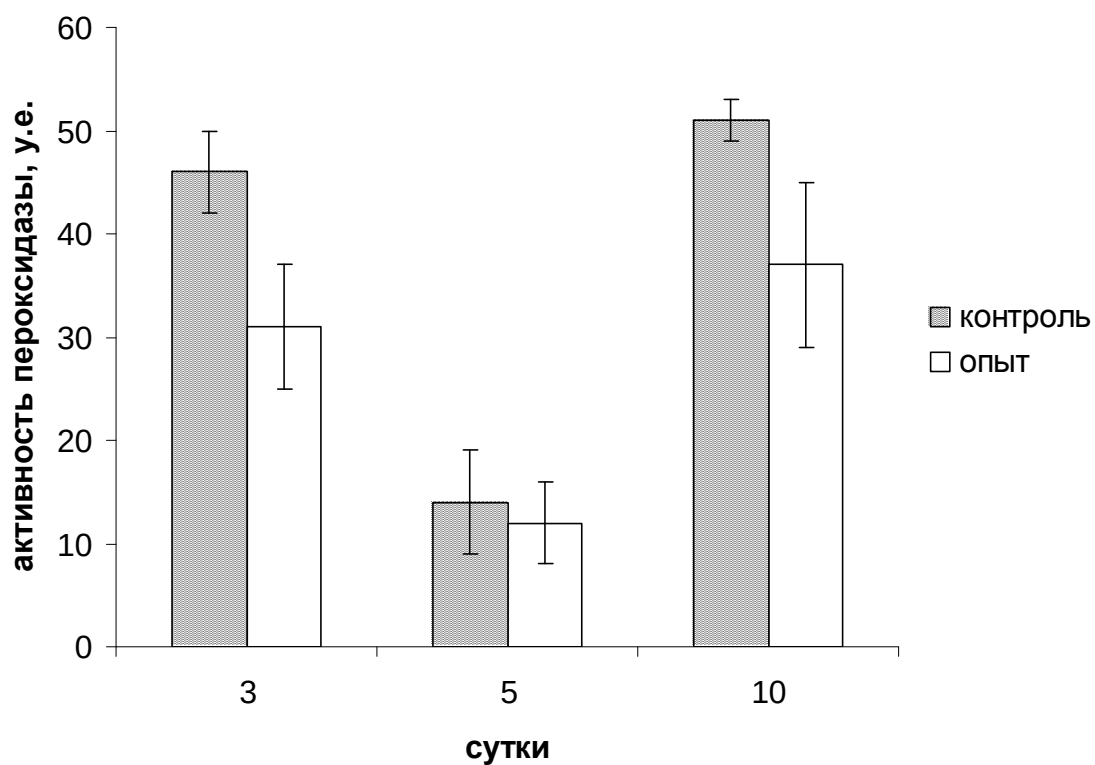


Рис. 3.41. Активность эксопероксидазы *Aspergillus niger* при воздействии КВЧ-излучения в дозе 0,009 мДж/см²

Анализ полученных биохимических данных показывает следующее: активность экзокаталазы *Alternaria alternata* при облучении КВЧ-излучением на 3 сутки снижается в сравнении с контролем. Активность эксопероксидазы под действием КВЧ-излучения снижена на 3 сутки, а на 10 сутки культивирования наблюдается стимуляция активности фермента в опыте. Т.о. можно предположить, что КВЧ-излучение способно стимулировать выработку данного фермента у исследуемой культуры.

В случае с культурой *Aspergillus niger* наблюдается следующая картина: активность экзокаталазы при облучении КВЧ-излучением в опыте возрастает на 10 сутки культивирования. Активность же эксопероксидазы, наоборот снижена на 3 и 10 сутки культивирования по отношению к контролю. То, что активность экзокаталазы была выше в опытных образцах, позволяет нам сделать предположение о стимуляции выработки экзофермента в ответ на действие КВЧ-излучения.

Проделанный цикл биохимических исследований позволяет утверждать, что воздействие на зародышевые структуры микромицетов КВЧ-излучения может влиять на физиолого-биохимическую активность мицелия, развивающегося из облученных пропагул. Полученные результаты показывают, что имеет место адаптация (путем изменения активности ферментативного аппарата) микромицетов к воздействию данного неблагоприятного для их жизнедеятельности физического фактора и именно адаптационные возможности микромицетов позволяют им, подвергнувшись воздействию данного вида электромагнитного излучения, восстанавливать нормальный уровень своих физиолого-биохимических функций.

Также нами изучалось изменение активности эксопероксидазы и экзокаталазы мицелия гриба *A. niger* после однократного воздействия КВЧ-излучения в дозе 0,009 мДж/см². Для этого гриб культивировали в жидкой среде Чапека-Докса в течение 7 суток, затем пеллеты мицелия отфильтровывали, подвергали воздействию КВЧ, после чего пеллеты помещали в жидкую среду Чапека-Докса и культивировали в течение 10

дней, на 3, 5 и 10 сутки культивирования проводили определение экзооксидоредуктаз в культуральной жидкости. Результаты данного эксперимента представлены на рисунках 3.42 и 3.43.

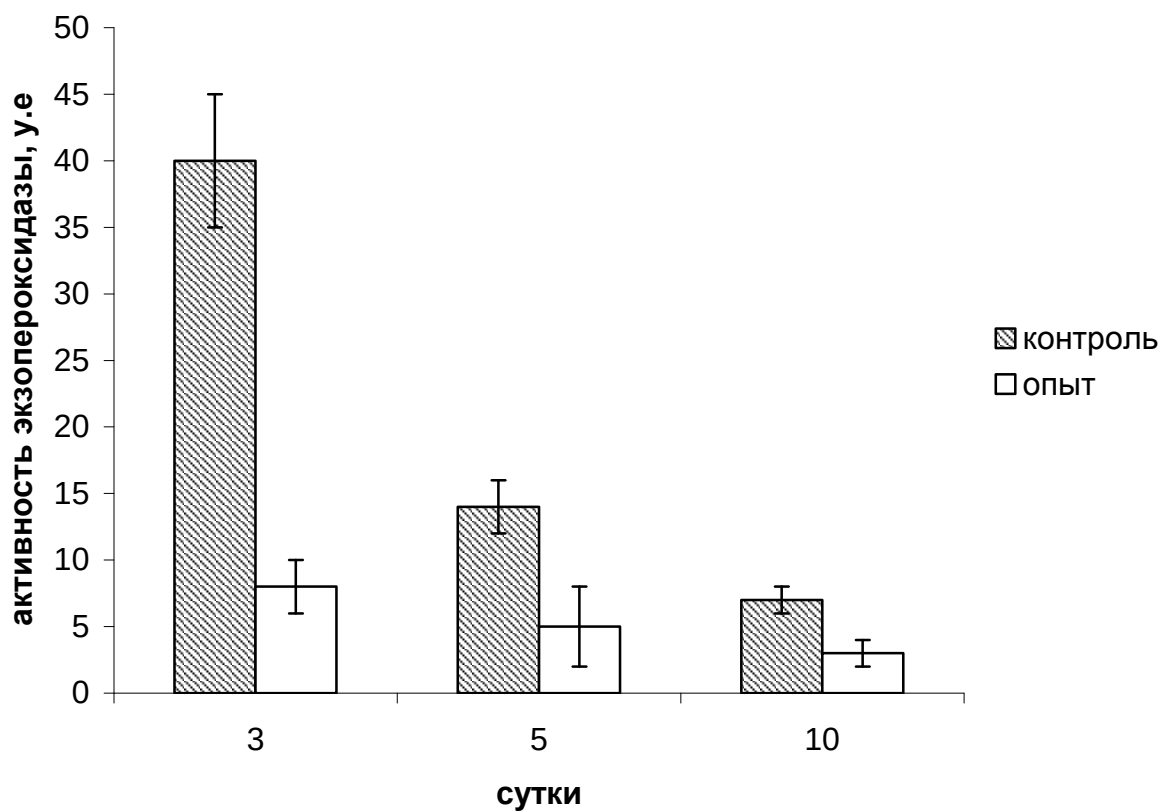


Рис. 3.42. Динамика активности экзопероксидазы *A. niger* при воздействии КВЧ-излучения в дозе 0,009 мДж/см² на мицелий

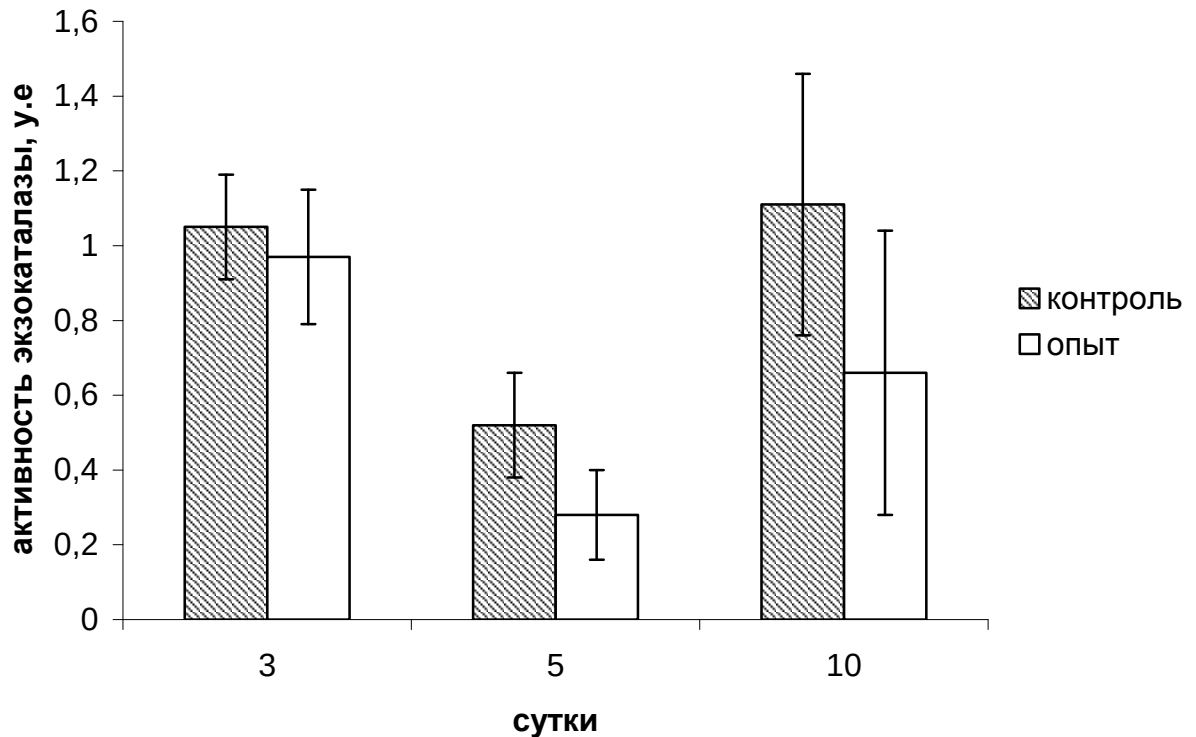


Рис. 3.43. Динамика активности экзокаталазы *A. niger* при воздействии КВЧ-излучения в дозе 0,009 мДж/см² на мицелий

При воздействии КВЧ-излучения на мицелий *Aspergillus niger* наблюдается достоверное снижение активности экзопероксидазы в опыте в течение всего времени культивирования. Достоверного изменения активности экзокаталазы в опыте не наблюдается.

Сравнение результатов изменения экзooksидоредуктазной активности при воздействии КВЧ-излучения на пропагулы и мицелий *A. niger* показывает, что динамика активности экзопероксидаз у мицелия и пропагул одинаковая (наблюдается снижение активности под действием излучения в опыте). Тогда как динамика активности экзокаталаз у пропагул и мицелия отличается, – при действии излучения на мицелий активность не изменяется, – у пропагул возрастает на 10 сутки культивирования. Полученные результаты позволяют нам высказать предположение, что пропагулы микромицетов более чувствительны к действию КВЧ-излучения чем их мицелий.

3.2.7.5. Эффекты сочетанного действия физических и химических фунгицидных факторов

На предыдущих этапах работы нами были изучены фунгицидные эффекты ряда излучений, как высокоинтенсивных, так и низкоэнергетических. Было показано, их высокое биоцидное действие на пропагулы тест-культур микромицетов, были установлены оптимальные мощностные характеристики этого действия.

В связи с вышеизложенным, целью данной работы являлось изучение эффективности сочетанного действия ультрафиолетового и КВЧ-излучений с химическими биоцидными препаратами на основе гуанидина – «Авансепт» и хлора – «Гипохлорид натрия» в их субфунгицидных (заниженных, вызывающих гибель ~50% КОЕ тест-культур микромицетов) концентрациях, – а именно 0,5% и 0,1%.

Была проведена оценка фунгицидного эффекта от совместного синергического действия УФ-излучения в дозе 60 мДж/см² и «Гипохлорида натрия» на стандартные штаммы микромицетов. Результаты данного эксперимента представлены в таблице 3.51.

Таблица 3.51

Сравнительная оценка изменения титра КОЕ у стандартных штаммов микромицетов при действии фунгицидного препарата «Гипохлорид натрия» в концентрации 0,1% и совместном его действии с УФ в дозе 60 мДж/см²

Вид гриба	КОЕ/мл					
	фунгицид			фунгицид и УФ		
	контроль	опыт	ΔТ, %	контроль	опыт	ΔТ, %
<i>Alternaria alternata</i>	43±2	8±3	81	87±7	1±1	99
<i>Aspergillus niger</i>	79±7	26±6	67	279±6	89±4	68
<i>Chaetomium globosum</i>	32±2	12±2	63	25±6	0±0	100
<i>Fusarium moniliforme</i>	55±8	20±4	64	62±10	0±0	100
<i>Penicillium chrysogenum</i>	73±6	42±3	42	238±6	0±0	100

Как видно из таблицы при совместном воздействии УФ и биоцида жизнеспособность пропагул практически всех тест-культур за исключением *Aspergillus niger* ингибируется на уровне 99-100%.

В дальнейшем мы оценивали фунгицидный эффект от совместного синергического действия УФ-излучения и «Авансепта» на стандартные и «дикие» штаммы микромицетов. Результаты данного эксперимента представлены в таблице 3.52.

Таблица 3.52

Сравнительная оценка изменения титра КОЕ у стандартных и «диких» штаммов микромицетов при действии фунгицидного препарата

«Авансепт» в концентрации 0,5% и совместном его действии

с УФ в дозе 60 мДж/см²

Вид гриба	КОЕ/мл					
	фунгицид			фунгицид и УФ		
	контроль	опыт	ΔT , %	контроль	опыт	ΔT , %
<i>Alternaria alternata</i>	18±2	9±1	50	63±5	1±1	98
<i>Aspergillus niger</i>	108±7	45±5	58	110±10	31±10	72
<i>Chaetomium globosum</i>	25±2	11±3	56	90±12	1±1	99
<i>Fusarium moniliforme</i>	54±4	2±1	96	80±10	1±1	99
<i>Penicillium chrysogenum</i>	112±4	52±2	54	126±14	3±1	98
<i>Aspergillus fumigatus</i> НУ-8	101±7	47±8	53	57±10	16±4	72
<i>Fusarium moniliforme</i> НУ-10	53±6	0±0	100	26±5	0±0	100
<i>Penicillium terrestre</i> НУ-9	152±11	62±3	59	26±4	1±1	96
<i>P. citrinum</i> НУ-2	78±3	29±5	63	131±11	1±1	99
<i>Paecilomyces variotii</i> НУ-7	79±1	27±3	66	104±16	1±1	99

Как и в предыдущих опытах наблюдается существенное повышение фунгицидного эффекта при совместном воздействии на пропагулы микромицетов физических и химических биоцидных факторов.

Результаты по оценке фунгицидного эффекта от совместного синергического воздействия КВЧ-излучения в дозе 0,018 мДж/см² и «Гипохлорида натрия» на стандартные штаммы микромицетов представлены в таблице 3.53.

Таблица 3.53

Сравнительная оценка изменения титра КОЕ у стандартных штаммов микромицетов при действии фунгицидного препарата «Гипохлорид натрия» в концентрации 0,1% и совместном его действии с КВЧ-излучением в дозе 0,018 мДж/см²

Вид гриба	КОЕ/мл					
	фунгицид			фунгицид и КВЧ		
	контроль	опыт	ΔТ, %	контроль	опыт	ΔТ, %
<i>Alternaria alternata</i>	43±2	8±3	81	24±3	0±0	100
<i>Aspergillus niger</i>	79±7	26±6	67	135±3	25±9	81
<i>Chaetomium globosum</i>	32±2	12±2	63	56±8	0±0	100
<i>Fusarium moniliforme</i>	55±8	20±4	64	132±15	23±6	83
<i>Penicillium chrysogenum</i>	73±6	42±3	42	124±11	38±5	69

Результаты экспериментов по оценке сочетанного фунгицидного действия КВЧ-излучения в дозе 0,018 мДж/см² и дезинфицирующего средства «Авансепт» в концентрации 0,5% на стандартные и «дикие» штаммы микромицетов представлены в таблице 3.54.

Таблица 3.54

Сравнительная оценка изменения титра КОЕ у стандартных и «диких» штаммов микромицетов при действии фунгицидного препарата «Авансепт» в концентрации 0,5% и совместном его действии с КВЧ-излучением в дозе 0,018 мДж/см²

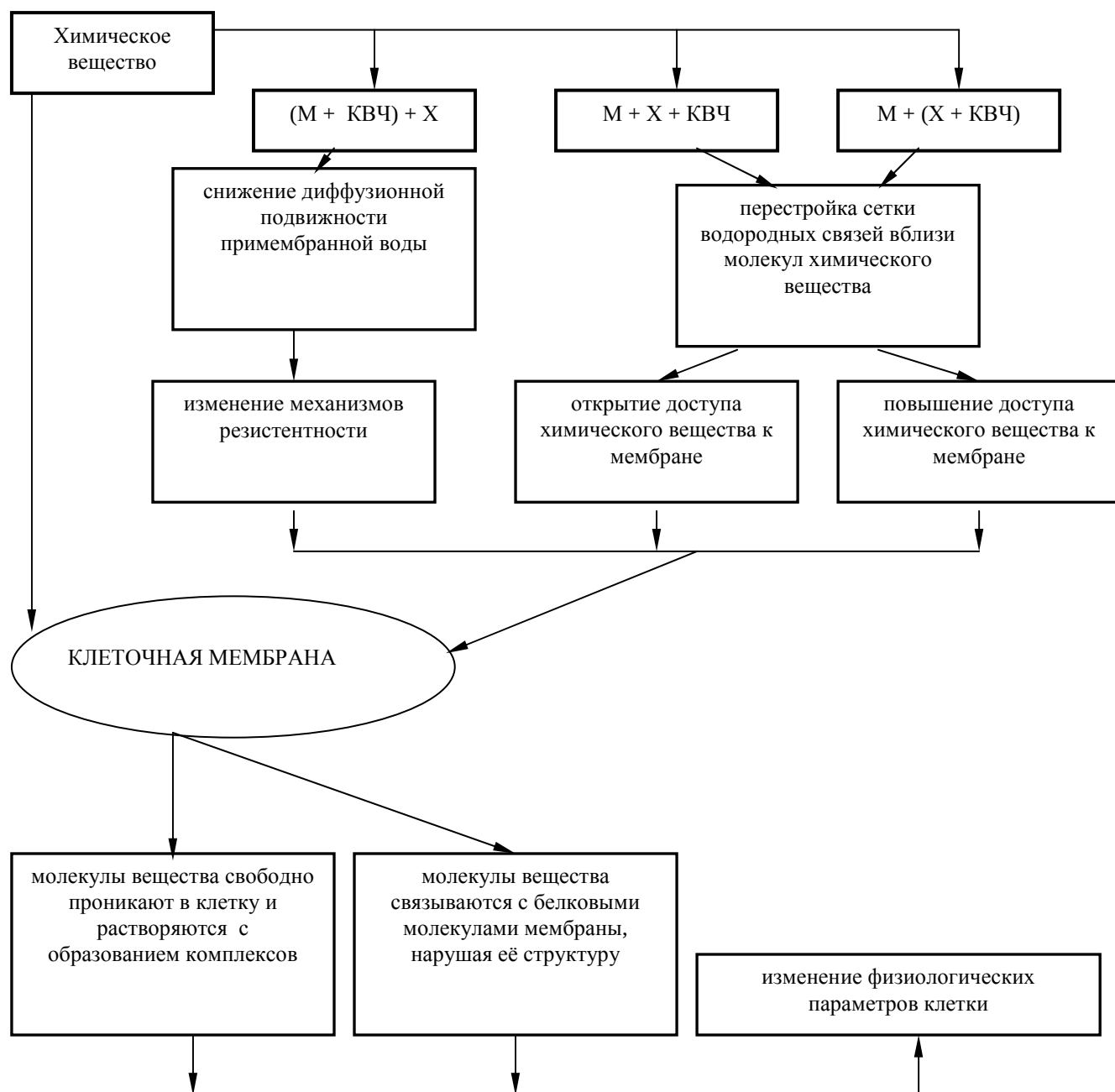
Вид гриба	КОЕ/мл					
	фунгицид			фунгицид и КВЧ		
	контроль	опыт	ΔТ, %	контроль	опыт	ΔТ, %
<i>Alternaria alternata</i>	18±2	9±1	50	27±2	1±1	96
<i>Aspergillus niger</i>	108±7	45±5	58	108±7	18±2	83
<i>Chaetomium globosum</i>	25±2	11±3	56	47±4	0±0	100
<i>Fusarium moniliforme</i>	54±4	2±1	96	54±4	0±0	100
<i>Penicillium chrysogenum</i>	112±4	52±2	54	227±3	0±0	100
<i>Aspergillus fumigatus</i> НУ-8	101±7	47±8	53	73±10	0±0	100
<i>Fusarium moniliforme</i> НУ-10	53±6	0±0	100	26±9	0±0	100
<i>Penicillium terrestre</i> НУ-9	152±11	62±3	59	76±12	0±0	100
<i>P. citrinum</i> НУ-2	78±3	29±5	63	63±12	0±0	100
<i>Paecilomyces variotii</i> НУ-7	79±1	27±3	66	83±12	0±0	100

Из данных, представленных в таблицах видно, что, при совместном применении КВЧ-излучения и фунгицидных препаратов (даже в предельно малых концентрациях) фунгицидное действие данного вида излучения существенно усиливается (в среднем на 30%); вплоть до полной инактивации жизнеспособности пропагул ряда тест-культур: *Ch. globosum*, *F. moniliforme* и *P. chrysogenum* в сочетании с препаратом «Авансепт», и *Alt. alternata* и *Ch. globosum* – с «Гипохлоридом натрия», также необходимо отметить полное ингибирование жизнеспособности пропагул у всех «диких» штаммов микромицетов.

Объяснить подобный эффект, на наш взгляд, можно со следующих позиций: известно, что синергическое действие антимикробной комбинации веществ, принадлежащих к различным химическим классам, достигается, как правило, тем, что один компонент воздействует непосредственно на морфологию и физиолого-биохимические процессы у грибов, другой – облегчает его проникновение в клетки (Сухаревич и др., 2009); в то же время ряд авторов считает, что действие КВЧ-излучения на биологические объекты может быть связано с усилением конвекции водных растворов и пассивного транспорта ионов через мембраны с переносчиком (Кожокару, 2006), – поэтому мы предполагаем, что синергическое высокоэффективное фунгицидное действие КВЧ-излучения и биоцидов в субфунгицидных концентрациях обусловлено в первую очередь не собственным фунгицидным действием КВЧ-излучения, а тем, что оно облегчает и ускоряет процесс поступления молекул действующих веществ фунгицида внутрь грибной клетки.

Известно, что действие химических веществ на биообъекты основано на изменении разности потенциалов на цитоплазматической мембране, что играет основополагающую роль в резистентности и адаптации клеток к неблагоприятным воздействиям. Независимо от химической природы первым звеном воздействия химических факторов является мембраноповреждающий эффект – связывание с клеточными рецепторами и с последующей мобилизацией универсальных внутриклеточных механизмов регуляции. Длительное действие химических веществ и их высокие концентрации приводят к снижению резистентности клеток.

На основании полученных данных и сведений литературы (Зотова, 2007) можно предположить следующую схему механизма действия КВЧ-излучения на процессы жизнедеятельности микромицетов (рис. 3.44). Вероятно, при воздействии токсических веществ на биологические системы, ответственными за восприятие ЭМИ КВЧ становятся не молекулы воды, а водные растворы соответствующих веществ.



М — микроицет; Х — химическое вещество (биоцид)

Рис. 3.44. Схема вероятного механизма комбинированного действия ЭМИ KBЧ и химических веществ на клетки микроицетов

В дальнейшем нами проводилась оценка фунгицидного эффекта совместного синергического действия КВЧ-излучения в дозе 0,018 мДж/см² и УФ-излучения в дозе 60 мДж/см². Результаты данного эксперимента представлены в таблице 3.55.

Как видно из данных таблицы комбинированное применение КВЧ-излучения в дозе 0,018 мДж/см² и УФ-излучения в дозе 60 мДж/см² позволяет инактивировать ~93% КОЕ тест-культур микромицетов, что значительно превышает фунгицидный эффект раздельного воздействия данных излучений. Интерпретировать данный эффект можно следующим образом: известно, что ультрафиолетовое излучение с длиной волны 200–300 нм и интенсивностью в несколько мВт/см² оказывает летальный эффект на клетки микроорганизмов, вызывая формирование тиминовых димеров в ДНК, это подавляет репликацию ДНК и вызывает летальный эффект (Laroussi, 2002). В свою очередь, полагают, что механизм действия КВЧ-излучения на биосистемы связан в том числе и с ингибированием репаративных процессов в клетках (Шестопалова, 1999). Таким образом, синергичность действия данных видов излучения обеспечивается за счет того, что КВЧ-излучение нарушает внутриклеточные механизмы нейтрализации мутагенных эффектов УФ-излучения.

Далее нами была проведена оценка биоцидного действия КВЧ- и УФ-излучений на «дикие» штаммы микромицетов. Результаты данного эксперимента представлены в таблице 3.56.

На основании данных таблицы можно уверенно говорить о высоком совместном биоцидном действии КВЧ- и УФ излучений на «дикие» штаммы микромицетов, выделяемые из антропогенных источников. Более того, биоцидное действие на дикие штаммы существенно выше (до 100% у культур *Fusarium moniliforme* НУ-10, *Penicillium terrestre* НУ-8, *P. citrinum* НУ-2), чем на штаммы из ВКМ, использованные нами ранее (см. табл. 3.55). Таким образом, по итогам проведенных экспериментов можно сделать вывод о том, что совместное воздействие КВЧ и УФ-излучений, в дозах

0,018 мДж/см² и 60 мДж/см² соответственно, характеризуется высокой фунгицидной активностью; применяя данное комплексное воздействие, можно будет проводить антиплесневые биозащитные мероприятия с высоким уровнем эффективности (80–100%). Применение подобного метода биозащиты, будет особенно актуальным в условиях современного мегаполиса, учитывая, что в последние годы мы все чаще сталкиваемся со своего рода «экологической экспансией» условно-патогенных микромицетов (Антонов, 2009).

Таблица 3.55

Раздельное и комбинированное воздействие на пропагулы микромицетов КВЧ и УФ излучений

Вид гриба	Количество КОЕ/мл								
	КВЧ 0,018 мДж/см ²			УФ 60 мДж/см ²			КВЧ 0,018 мДж/см ² + УФ 60 мДж/см ²		
	контроль	опыт	ΔТ %	контроль	опыт	ΔТ %	контроль	опыт	ΔТ %
<i>Aspergillus niger</i>	78±7	29±9	63	180±7	51±11	72	148±1	26±4	82
<i>Alternaria alternata</i>	26±6	7±1	73	59±8	26±4	56	84±10	14±1	83
<i>Chaetomium globosum</i>	8±2	1±1	88	24±3	14±4	42	76±13	1±1	99
<i>Fusarium moniliforme</i>	118±12	41±4	65	131±7	2±2	98	115±12	0±0	100
<i>Penicillium chrysogenum</i>	165±5	51±3	69	121±14	21±6	83	115±25	1±1	99

Таблица 3.56

Комбинированное воздействие на пропагулы «диких» штаммов микромицетов КВЧ- (0,018 мДж/см²) и УФО-излучением (60 мДж/см²)

Вид гриба	КОЕ/мл		
	контроль	опыт	ΔТ %
<i>Aspergillus fumigatus</i> НУ-7	92±3	2±1	98
<i>Fusarium moniliforme</i> НУ-10	55±5	0±0	100
<i>Penicillium terrestre</i> НУ-8	45±6	0±0	100
<i>P. citrinum</i> НУ-2	45±4	0±0	100
<i>Raecilomyces variotii</i> НУ-7	158±7	1±1	99

Результаты наших экспериментов, изложенные в данном разделе, позволяют нам утверждать, что, сочетая воздействие некоторыми физическими факторами (УФ, КВЧ) с обработкой биоцидными препаратами в низких экологически безопасных концентрациях можно существенно повысить качество проводимых биозащитных мероприятий, при этом снизив их экологическую нагрузку.

Чтобы подтвердить возможность практической реализации данного способа биозащиты нами был поставлен эксперимент по изучению биоцидного действия УФ и КВЧ по отдельности и в сочетании с дезсредством «Авансепт» в его субфунгицидной концентрации на очаг биоповреждения. Для этого нами был взят ряд исходно негрибостойких промышленных и строительных материалов (резины, гипсокартон, древесина), которые были инокулированы в трех вариантах (контроль – без воздействий; опыт «излучение» – воздействие ультрафиолетовым либо миллиметровым излучением; опыт «излучение+биоцид» – сочетанное воздействие излучения и препарата «Авансепт») суспензией ассоциативной культуры следующих штаммов микромицетов из коллекции ВКМ, известных как активные деструкторы различных материалов: *Aspergillus niger* van Tieghem, *Alternaria alternata* (Fries) Keissler, *Chaetomium globosum*

Kunze, Fusarium moniliforme Sheldon, Penicillium chrysogenum Thom. Образцы материалов при помощи микропипетки инокулировались контрольным и опытными вариантами суспензии. Инокуляцию образцов проводили в стерильных чашках Петри, образцы выдерживались в чашках до полного высыхания капель инокулята, но не более 60 минут. Затем инокулированные образцы материалов помещались в чашки Петри с безуглеродной питательной средой Чапека-Докса. Далее чашки культивировались в термостате, на 5-е сутки проводился осмотр образцов. Грибостойкость образцов оценивалась по степени их обрастания грибами. Оценка грибостойкости материалов производилась в соответствии с ГОСТ 9.049–75 (91). Испытания материалов проводились по стандартной методике (к ассоциативной культуре микромицетов. Результаты данных экспериментов представлены в таблицах 3.57 и 3.58.

Таблица 3.57

Воздействие УФО и биоцида на очаг биоповреждения строительных и промышленных материалов

Материал	Степень обрастания в баллах (метод 1)		
	контроль	УФО 60 мДж/см ²	УФО 60 мДж/см ² + Авансепт 0,5%
резина 6 ГС-4	5	3	1
гипсокартон	4	3	3
древесина	5	5	5

Таблица 3.58

**Воздействие КВЧ-излучения на очаг биоповреждения строительных
и промышленных материалов**

Материал	Степень обрастания в баллах		
	контроль	КВЧ 0,018 мДж/см ²	КВЧ 0,018 мДж/см ² + Авансепт 0,5%
резина 6 ГС-2	4	3	1
гипсокартон	5	4	3
древесина	5	5	3

Из полученных результатов четко следует, что облучение УФ в большинстве случаев (за исключением древесины) способно оказывать антисептическое воздействие на очаг биоповреждения строительных и промышленных материалов и снижать степень их биодеструкции микромицетами. Еще более эффективным в данном аспекте является совместное синергическое действие УФ и биоцидного препарата: у всех испытанных нами материалов (за исключением древесины) наблюдается значительное снижение степени обрастания. Более того, все материалы изначально негрибостойкие (степень обрастания в контроле 4-5 баллов) после воздействия УФ и биоцидным препаратом приобретают грибостойкие свойства (степень их обрастания становится 1-2 балла). Аналогичная картина наблюдается и для КВЧ-излучения, причем его совместное действие с биоцидом повышает также и грибостойкость древесины до 3 баллов, что является удовлетворительным показателем для изделий общегражданского назначения.

Таким образом, из полученных нами результатов следует, что совместное действие УФ в дозе 60 мДж/см², КВЧ в дозе 0,018 мДж/см и биоцидного препарата в предельно низкой концентрации позволяет воздействовать на очаги биоповреждения промышленных и строительных

материалов с высокой степенью эффективности. Биозащитные мероприятия, проводимые с использованием технологии комбинирования физических и химических факторов биоцидного (биозащитного) действия будут отличаться высокой эффективностью, малой затратностью и низкой экотоксикологической нагрузкой, а также будут способствовать профилактике микозов и микогенных аллергий у жителей зданий, подверженных процессу биоповреждения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Общемировая практика и полученные нами результаты показывают, что очень часто устойчивый к действию грибов в лабораторных условиях материал при эксплуатации в природных условиях подвергается утилизации, аналогичная картина наблюдается и для защищенных биоцидами материалов. Это позволяет нам утверждать, что в существующей классической схеме оценки устойчивости промышленных материалов к биоповреждениям (рис. 2.1) не учитывается действие экологических абиотических факторов внешней среды, которые, постоянно действуя на процесс биоповреждения, приводят к изменению способности материалов к утилизации. Что в свою очередь позволяет нам предложить новое видение отношений между участниками биоповреждающей ситуации, ранее описываемых в виде «триады биоповреждающего процесса» (рис. 2.2), которое может быть представлено в виде схемы на рисунке 3.45, иллюстрирующей процесс биоповреждения в биосфере.



Рис. 3.45. Отношения между участниками биоповреждающей ситуации с учетом действия на них факторов внешней среды

В ходе выполнения работ в рамках цели и задач настоящего диссертационного исследования были получены новые знания о возможности использования синтетических полимеров и гибридных композиций природных полимеров с синтетическими в качестве источника питания микроскопическими грибами; выявлены новые закономерности в оценке устойчивости материалов к биоповреждениям, изменению их физико-механических свойств в процессе биоповреждения, подбора грибов-деструкторов. Предложен новый подход комплексной оценки процесса деструкции микромицетами полимерных материалов, основанный на учете взаимосвязи процессов утилизации полимерных материалов и воздействия на них факторов внешней среды (экологии субстрата), схематично представленный на рисунке 3.46. Это в значительной степени повышает объективность оценки устойчивости полимерных материалов к микробиологическим повреждениям, позволяет прогнозировать устойчивость материалов в естественных условиях эксплуатации, управлять процессами биоповреждения и биоразрушения в реальной среде, дает возможности для ранней индикации биоповреждений и целенаправленного поиска эффективных средств биозащиты полимерных материалов.



Рис. 3.46. Модифицированная схема оценки устойчивости промышленных материалов к биоповреждениям, учитывающая влияние экологических факторов на процессы микодеструкции

Обобщая вышеизложенное в предшествующих главах можно сформулировать следующее заключение: **при разработке методов оценки устойчивости полимерных материалов к действию микروмицетов-деструкторов и способов повышения данной устойчивости ключевым аспектом является учет влияния экологических факторов на процессы микодеструкции.**

ВЫВОДЫ

1. Синтетические полимерные материалы клей «Лейконат», герметик УТ-34, пластик АБС-2020-31, полистирол УПС-825Д и материалы, содержащие природные полимеры – гетерополимерные композиции хитозана с поливинилпирролидоном и поливинилспиртом, привитые сополимеры акрилонитрила на хитозан, блок-сополимеры хитозана с крахмалом и полиакриламидом, модифицированная хитозаном бумага, сополимеры крахмала и полиметилакрилата – способны использоваться в качестве источника питания микроскопическими грибами. Компаунд ЭЗК-6, клей-мастика ГИПК-23-12, стеклотекстолит СТЭФ-1, блок-сополимер ХТЗ-МА – солевая форма, композиция ПВХ : ХТЗ (1:0,1) и композиции ПВХ с целлюлозой являются биостойкими, то есть не поддерживают рост микромицетов.
2. Многокомпонентная полимерная композиция является системой, характеризующейся свойством эмерджентности, ее биостойкие свойства невозможно предсказать на основе знания свойств ее ингредиентов и взаимодействий между ними, рассматриваемых изолированно. Поэтому любая вновь синтезированная полимерная композиция должна подвергаться исследованию на устойчивость к действию микромицетов.
3. К истинным деструкторам полимерной композиции относятся не все микромицеты, рост которых обнаруживается на материале в природных условиях, а только виды-стенофаги, способные использовать данный материал в качестве единственного источника питания.
4. Наиболее активными деструкторами являются: клеев, герметиков и пластиков грибы *Aspergillus terreus*, *Chaetomium globosum*, *Penicillium cyclopium*, *Trichoderma viride*; хитозана и полимеров на его основе – *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium ochro-chloron*, *Penicillium sp. HY-12*,

Paecilomyces sp. НУ-10, *Trichoderma viride*; сополимеров крахмала и полиметилакрилата – *Aspergillus oryzae* и *Paecilomyces variotii*.

5. Действие микроскопических грибов – активных деструкторов приводит к изменению у полимеров следующих свойств: разрушающее напряжение, характеристическая вязкость, прочность и деформация при разрыве, что свидетельствует о биодegradации полимеров. Следовательно, измерение данных свойств можно использовать в качестве способа ранней экспресс-диагностики процесса биоповреждения полимеров на стадии формирования вегетативного мицелия микромицетов, то есть на 3–7 сутки от начала деструкционного процесса.
6. В начальных стадиях деструкционного процесса показана роль следующих ферментов микромицетов – внеклеточные эстеразы (при утилизации сополимеров крахмала и полиметилакрилата) и экзохитозаназа (при утилизации сополимеров хитозана и метилакрилата).
7. Абиотические (физические) факторы способны не только снижать степень биостойкости полимерных материалов, но и увеличивать или уменьшать биоцидную активность у средств их защиты, в ряде случаев придавая биоцидный эффект или вызывая его исчезновение, что может сказаться на биостойкости материала при эксплуатации в определенных климатических зонах.
8. Установлено, что ультрафиолетовое и миллиметровое излучения и высокая температура оказывают влияние на физиолого-биохимические характеристики микромицетов – активных деструкторов исследованных нами полимерных материалов: рост мицелия, выживаемость пропагул, активность экзопероксидазы и экзокаталазы, активность экзохитозаназы.
9. С целью увеличения объективности оценки существующих стандартных методов испытания полимерных материалов на

устойчивость к биодеструкции необходимо внести в них ряд изменений и дополнений: раннюю диагностику процесса биоповреждения; учет экологических аспектов воздействия факторов внешней среды на материал, средства его защиты и агентов биоповреждения, а также учет явления антагонизма среди используемых тест-культур.

10. В процессе проведения диссертационного исследования был разработан экологический подход к процессу биодеструкции полимерных материалов, включающий комплексный учет воздействия абиотических факторов внешней среды на свойства полимера, жизнедеятельность микромицетов-деструкторов, эффективность средств биозащиты, который может использоваться для диагностики и прогнозирования биостойких свойств, как не защищенных так и защищенных биоцидами материалов, в реальных условиях их эксплуатации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абызов С.С., Белякова Л.А. Мицелиальные грибы из толщи ледника центральной Антарктики // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1982. № 3. С. 432–436.
2. Абрамова Н.Ф., Шкулова Г.А., Астахова Л.С., Шашалович М.П. Влияние старения на грибостойкость пластмасс // Матер. II Всесоюзн. конф. по биоповреждениям. Горький. 1981. С. 35–37.
3. Александрова И.Ф., Цендровский Д.В., Толмачева Р.Н. Защита интегральных микросхем от биоповреждений с помощью гамма-радиации // Биоповреждения: тезисы докладов 2-ой Всесоюзной конференции по биоповреждениям, в 2 ч., Горький, 1981. ч. 1, Горький, 1981. С. 77–78.
4. Александрова А.В. Род *Trichoderma Pers.: Fr.* // Новое в систематике и номенклатуре грибов. 2003. С. 219–276.
5. Алехова Т.А., Александрова А.В., Воробьева Е.В., Загустина Н.А., Захарчук Л.М., Татарина М.Ю., Новожилова Т.Ю., Романов С.Ю. Микроорганизмы на борту российского сегмента МКС, 10 лет мониторинга // «Современная микология в России». Тез. Докл. 3-го съезда микологов России. 2012. С. 208–209.
6. Андреюк Е.И., Билай В.И., Коваль Э.З., Козлова И.А. Микробная коррозия и её возбудители. Киев: Наук. думка, 1980. 287 с.
7. Анисимов А.А., Смирнов В.Ф., Семичева А.С., Чадаева Н.И. Ингибирующее действие фунгицидов на ферменты ЦТК. // Сб. «Цикл трикарбоновых кислот и механизм его регуляции». М.: Наука, 1977. С. 19–20.
8. Анисимов А.А., Смирнов В.Ф. Биоповреждения в промышленности и защита от них. Горький: Горьк. ун-т, 1980. 81 с.
9. Анисимов А.А., Смирнов В.Ф., Фельдман М.С., Александрова И.Ф., Толмачева Р.Н. К вопросу о выделении микрофлоры при исследовании

- биоповреждений радиоэлектронных изделий //Методы выделения и идентификации почвенных микромицетов-биодеструкторов. Вильнюс. 1982. С. 14–18.
- 10.Анисимов А.А., Смирнов В.Ф., Фельдман М.С., Семичева А.С., Толмачёва Р.Н., Тарасова Н.А., Солдатова Н.К. Биологическая коррозия некоторых полимерных материалов и защита от неё // Противокоррозионная защита материалов. Горький, 1983. С.24–35.
 - 11.Анисимов А. А. Процессы повреждений материалов микроорганизмами // Экологические основы защиты от биоповреждений. М., 1985. С. 95–105.
 - 12.Анисимов А.А., Веселов А.П., Семичева А.С. Биохимия и биокоррозия. Горький, 1987. 64 с.
 - 13.Анисимов А.А., Семичева А.С. Биоповреждения полимерных материалов, используемых в приборо- и машиностроении // Сб. «Биоповреждения и методы оценки биостойкости материалов». М.,1988. С. 32–39.
 - 14.Антонов В.Б. Антропогенно-очаговые болезни жителей большого города // Журн. инфектологии. Том 1. № 2/3. 2009. С. 7–12.
 - 15.Астраханцева М.Н., Крыницкая А.Ю., Гамаюрова В.С., Суханов П.П., Сотников В.А. Особенности роста дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* под действием комплекса ГОЭДФ и КВЧ излучения // Сборник докладов всероссийской научно-технической конференции-выставки «Высокоэффективные пищевые технологии, методы и средства для их реализации». Ч. 1. Москва, 2004. С. 291–295.
 - 16.А. с. 1210839 СССР. М. Кл. А 61 L 9/20. Устройство для обеззараживания воздуха / Л.А. Прищеп, Е.Н. Живописцев, Н.С. Лебедев. № 3739964/28–13; Заявл.11.05.84; Оpubл. 15.02.86 // Открытия. Изобретения. 1986. № 6. С. 32.
 - 17.А. с. 11600777 СССР. М. Кл. А 61 L 2/02. Устройство для обработки воды с использованием УФ-излучения / Ю.Ю. Белоус, А.Г. Косторнов,

- Ю.М. Ефименко, Л.И. Белоус. № 4482954/30–14; Заявл.15.09.88; Оpubл. 23.10.90 // Открытия. Изобретения. 1990. № 39. С. 30.
- 18.Бабенко Ф.И., Герасимов А.А., Родионов А.К., Сухов А.А., Федоров С.П., Федоров Ю.Ю. Оценка эксплуатационных характеристик полимерных материалов и изделий в условиях холодного климата // Вестник ЯГУ. 2006. Т.3, № 1. С. 48–53.
- 19.Бабенко Ф.И., Герасимов А.А. Механизмы разрушения и прочность конструкционных пластмасс в холодном климате с учетом старения // Наука и образование. 2006. № 1(41). С.84–87.
- 20.Багданавичене З.П., Лугаускас А.Ю., Репечкене Ю.П., Григайтите Л.М. Распространение микроорганизмов на полимерных материалах в естественных условиях // Биологическое повреждение материалов. Вильнюс, 1979. С. 18–22.
- 21.Бадалян С.М. Антифунгальная активность различных базидиомицетовых макромицетов // Проблемы медицинской микологии. 2004. № 1. С.18–26.
- 22.Балчугов В.А., Полякова А.Г., Анисимов С.И., Ефимов Е.И., Корнаухов А.В. КВЧ-терапия низкоинтенсивным шумовым излучением. Н.Новгород: ННГУ, 2002. 192 с.
- 23.Безбородов А.М., Астапович Н.И. Секреция ферментов у микроорганизмов. М.: Наука, 1984. 72 с.
- 24.Бережная Е.В., Смирнова О.Н., Семичева А.С., Смирнов В.Ф., Запорожец В.Д. Исследование биodeградации лакокрасочных материалов на основе эпоксиэфиров, эпоксиалкидов и акрилатов IV Всесоюзная конференция по биоповреждениям: Тез. докл. Н. Новгород, 1991. С. 13.
- 25.Бецкий О.В., Кислов В.В., Лебедев Н.Н. Миллиметровые волны и живые системы.- М.: Сайнс-пресс, 2004. 272 с.
- 26.Билай В.И. Биологически активные вещества микроскопических грибов и их применение. Киев: Наукова думка, 1965. 268 с.

- 27.Билай В.И., Коваль Э.З. Грибы, вызывающие коррозию // Биологические повреждения строительных и промышленных материалов. Киев, 1978. С. 19–21.
- 28.Билай В.И. Термостабильные ферменты грибов. Киев: Наукова думка, 1979. 246 с.
- 29.Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. 550 с.
- 30.Билай В.И. Основы общей микологии. Киев: Вища шк., 1986. 395 с.
- 31.Билай В.И., Коваль Э.З. Аспергиллы. Киев: Наукова думка, 1988. 204 с.
- 32.Благник Р., Занова В. Микробиологическая коррозия: Пер. с чеш. М.; Л.: Химия, 1965. 222 с.
- 33.Борисова Н.Н., Рябцова В.Г., Косенкова А.Р. Устойчивость резин на основе различных каучуков к биологическим воздействиям // Микроорганизмы и низшие растения – разрушители материалов и изделий. М.: Наука, 1979. С. 96–107.
- 34.Борискин С.И., Черушова Н.В., Морозов Е.А., Ерофеев В.Т. Биокоррозия лакокрасочных материалов // Мат. 2-й междунаrod. науч.-техн. конф. «Биоповреждения и биокоррозия в строительстве». Саранск. 2006. С. 223–224.
- 35.Боровиков В.П. Программа Statistica для студентов и инженеров. М.: Компьютер-пресс, 2001. 301 с.
- 36.Бочаров Б.В. Химическая защита строительных материалов от биологических повреждений // Биоповреждения в строительстве. М., 1984. С. 96–104.
- 37.Бочаров Б.В., Анисимов А.А., Крюков А.А. Основные средства защиты материалов от повреждений микроорганизмами // Экологические основы защиты от биоповреждений / В.Д. Ильичев, Б.В. Бочаров. М: Наука. 1985. С. 172–210.
- 38.Бочаров Б.В., Герасименко А.А., Коровина И.А. Биостойкость материалов. М., 1986. 206 с.

- 39.Бочева С.С. Изменение интенсивности дыхания гриба *Aspergillus oryzae* в зависимости от состава питательной среды // Изв. Сев.-Кавказского науч. центра высш. школы. Сер. естественных наук. 1974. № 33. С. 82–83.
- 40.Васильев О.Д, Ерофеев В.Т., Карташов В.Р., Морозов Е.А., Светлов Д.А., Смирнов В.Ф., Стручкова И.В. Противодействие биоповреждениям. С.-Пб.: Софт-Протектор, 2004. 49 с.
- 41.Васко П.П., Ермолович А.А., Карпович В.А., Михаленко Е.Г., Новикова О.Т. // Миллиметровые волны в медицине и биологии: Докл. 13-о Росс. Симп. с междунар. участием- М.: ИРЭ РАН, 2004.-С. 70–71.
- 42.Веселов А.П., Шляпникова М.А., Иудина К.А., Петривний В.А. Кислотопродукция как фактор жизнедеятельности и биодеструктивной активности микромицетов // Биохимические основы защиты промышленных материалов от биоповреждений: Межвуз. сб. Горький: ГГУ, 1989. С. 31–34.
- 43.Вербина И.М. Влияние четвертичных аммониевых соединений на микроорганизмы и их практическое использование // Микробиология. 1973. Т. 5, № 2. С. 45–48.
- 44.Ветцел Р., Беккер М., Цирвер Д. Действие ультрафиолетового излучения на ДНК в зависимости от её структурных свойств // Ультрафиолетовое излучение, под ред. проф. Н. М. Данцига, пятый сборник. Издательство «Медицина», М., 1971. С.14-17.
- 45.Владимиров Ю.А. Первичные физико-химические стадии действия ультрафиолетового излучения на белки // Ультрафиолетовое излучение, под. ред. Г.М. Франка, Г.С. Варшавера, Н.М. Данцига и М.В. Соколова, сборник третий. Государственное издательство медицинской литературы, Медгиз, Москва, 1960. С. 5–14
- 46.Влодавец В.В. Изменение видового состава микрофлоры воздуха лабораторных помещений под влиянием ультрафиолетового излучения // Ультрафиолетовое излучение, под. ред. Г.М. Франка, Г.С. Варшавера, Н.М. Данцига, М.В. Соколова, сборник третий.

- Государственное издательство медицинской литературы, Медгиз, Москва, 1960. С.198–206.
47. Воробьев А.А., Кривошеин Ю.С., Широбоков В.П. Медицинская и санитарная микробиология. М.: АСАДЕМА. 2003. 464 с.
 48. Воронина Е.Ю. Влияние микоризосферы на видовой состав и структуру сообщества почвенных микромицетов по сравнению с ризосферным и гидросферным эффектами // Микология и фитопатология. 2011. Т. 45. № 1. С. 26–34.
 49. Гапеев А.Б., Чемерис Н.К. Действие непрерывного и модулированного ЭМИ КВЧ на клетки животных. Обзор. Часть I. Особенности и основные гипотезы о механизмах биологического действия ЭМИ КВЧ // Вестник новых медицинских технологий. 1999. Т. VI, № 1. С. 15–22.
 50. Герасимов В.Н., Голов Е.А., Холоденко В.П., Кобелев В.С., Миронова Р.И., Расулова Г.Е. Электронно-микроскопические исследования биоповреждений металлов // Конференция «Биологические проблемы экологического материаловедения»: Материалы конф. Пенза, 1995. С. 17–18.
 51. Герасименко А.А. Защита от коррозии, старения и биоповреждения машин, оборудования и сооружений. Справ.: Т 1. М.: Машиностроение, 1987. 688 с.
 52. Горина К.Ю., Богатов А.Д. Биодеструкция полимерсодержащих строительных материалов на примере полимерных герметизирующих материалов и изделий // «Биоповреждения и биокоррозия в строительстве» Мат. 3-й междунаро. науч.-техн. конф. Саранск: Изд-во Мордовского ун-та. 2009. С. 170–173.
 53. Горленко М.В. Микробное повреждение промышленных материалов // Микроорганизмы и низшие растения — разрушители материалов и изделий. М., 1979. С. 10–16.
 54. Грилихес С.Я., Евсеева Т.А., Соловьева Л.В. Защитно-декоративные покрытия алюминия // Об. «Знание» РСФСР, Л.: ЛДНТП, 1980. С. 23.

- 55.Гублер Е.Ф. , Генкин А.А. Применение непараметрических критериев в медико-биологических исследованиях. Л.: Медицина. 1973. 107 с.
- 56.Гукасян А.Б., Гродницкая И.Д. Интродукция микробов-антагонистов в лесные и искусственные биоциды // Защита и карантин растений. 1998. № 9. С. 13.
- 57.Гусарова Л.А., Витринская А.М. Дыхание и дегидрогеназная активность *Candida tropicalis* в присутствии фурфурола // Прикладная биохимия и микробиология. 1970. Т. 6, № 2. С. 161–167.
- 58.Гусев В.А. Селективная индукция репрессированного оперона в геноме *Escherihia coli*. Тезисы 7-го Всесоюзного семинара «Использование низко-интенсивного электромагнитного излучения в биологии и медицине», Москва, 1989, С. 81.
- 59.Девятков Н.Д., Голант М.Б., Реброва Т.Б. Радиоэлектроника и медицина // Радиоэлектроника. 1982. Т.25, №9. С.38.
- 60.Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. М.: Радио и связь, 1991. 169 с.
- 61.Дергунова А.В., Ерофеев В.Т., Смирнов В.Ф. Экономический и экологический ущерб от биоповреждений // «Биоповреждения и биокоррозия в строительстве» Мат. 3-й междунаро. науч.-техн. конф. Саранск: Изд-во Мордовского ун-та. 2009. С. 285–288.
- 62.Дзумедзей Н.В., Синдеева Л.А., Федоченко М.М. Биодеструкция полимерных материалов на основе диэтиленгликольбисаллилкарбоната // Пластические массы. 1994, № 2. С. 37–39.
- 63.Дмитриев Е.Ю., Власов А.Д. Микробные сообщества на некоторых бетонных сооружениях в Санкт-Петербурге // Мат. 3-й междунаро. науч.-техн. конф. «Биоповреждения и биокоррозия в строительстве». Саранск: изд-во Мордовского ун-та. 2009. С. 20–23.
- 64.Дормидонтова О. В., Смирнов В. Ф., Смирнова Л. А. Возможность получения водорастворимых олигомеров хитозана с помощью микромицетов // Биотехнология, 2002. № 6. С. 27–34.

- 65.Дормидонтова О.В. Экологические и физиолого-биохимические аспекты процесса биодеструкции хитозана микроскопическими грибами: Автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.16\О. В. Дормидонтова. Н. Новгород, 2003. 24 с.
- 66.Дрозд Г. Я. Микроскопические грибы как фактор биоповреждений жилых, гражданских и промышленных зданий. Макеевка: Б. И., 1995. 18 с.
- 67.Евсеева Н.В., Ефимова О.Г., Ефимова Н.А. Поражение волокон хлопка микроорганизмами // Изв. вузов. Технологии текстильной промышленности. № 5. 1996. С. 13–16.
- 68.Егоров Н.С., Голант М.Б., Ландау Н.С. // Тез. докл. IV Всесоюз. семинара «Изучение механизмов нетеплового воздействия миллиметрового излучения на биологические объекты и биологически активные соединения». ИРЭ АН СССР, 1981. С. 13.
- 69.Ежов В.А., Безбородов С.И., Санцевич Н.И. О регуляции биосинтеза внеклеточных фосфогидролаз у *Penicillium brevicompactum* // Микробиология. 1978. Т. 47. Вып. 4. С. 665–671.
- 70.Емельянов Д.Н., Смирнов В.Д., Чернорукова З.Г., Смирнова О.Н. Изменение механических свойств волокон в процессе биоповреждений микроскопическими грибами // Механика композиционных материалов и конструкций. № 3.1997. С. 55–61.
- 71.Ермилова И.А. Теоретические и практические основы микробиологической деструкции химических волокон. М.: Наука, 1991. 248 с.
- 72.Ерухимович С.З., Рудакова А.К. О микробиологическом влиянии на физико-механические и электрические характеристики поливинилхлоридного пластика // Кабельная техника. 1977. Вып. 4, № 146. С. 10–12.
- 73.Ерофеев В.Т., Богатов А.Д., Морозов Е.А., Манухов В.Ф., Бикбаев Р.А. Биосопротивление полимерных композитов // Мат. международ. науч.-

- техн. конф. «Биоповреждения и биокоррозия в строительстве». Саранск. 2004. С. 146–152.
74. Жиряева Е.В., Ермилова И.А., Комарова Т.И., Каневская И.Г. Деструкция синтетического волокна натрон под влиянием некоторых микромицетов // Микология и фитопатология. 1991. Т. 25. №2. С. 141–146.
 75. Жиряева Е.В., Платонова Н.В., Ермилова И.А., Клименко И.Б., Щукарев А.В. Исследование деструкции волокна на основе акрилонитрила // Микология и фитопатология. 1992. Т. 26. Вып. 1. С. 35–41.
 76. Завильгельский Г.Б., Товарницкий В.И. Молекулярные механизмы летального и мутагенного действия ультрафиолетового излучения на вирусы и бактерии // Ультрафиолетовое излучение, под. ред. Г. М. Франка, Г. С. Варшавера, Н. М. Данцига и М. В. Соколова, сборник третий. Государственное издательство медицинской литературы, Медгиз, Москва, 1960. С. 65–77.
 77. Заикина Н.А., Дуганова Н.В. Образование органических кислот, выделяемых с объектов, поражённых биокоррозией // Микология и фитопатология. 1975. Т. 9, № 4. С. 303–306.
 78. Защита от коррозии, старения и биоповреждений машин, оборудования и сооружений. Справ.: В 2 т. / Под ред. А.А. Герасименко. М.: Машиностроение, 1987. 688 с.
 79. Звягинцев Д.Г. Взаимодействие микроорганизмов с твёрдыми поверхностями. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1973. 175 с.
 80. Звягинцев Д.Г. Адгезия микроорганизмов и биоповреждения // Биоповреждения, методы защиты. Полтава, 1985. С. 12–19.
 81. Зильberman Е.Н. Получение и свойства поливинилхлорида. М.: Химия, 1968. 34 с.
 82. Злочевская И.В., Абсалямов С.Я., Галимова Л.М., Решетникова И.А. Изучение действия триметилалкиламмонийхлорида на гриб *Aspergillus ustus* // Микология и фитопатология. 1980. Т. 14, № 3. С. 212–216.

83. Злочевская И.В., Галимова Л.М. Влияние триэтилового хлорида на некоторые процессы метаболизма *Penicillium cyclopium* Westling // Микология и фитопатология. 1984. Т. 18, № 1. С. 44–48.
84. Зотова Е.А. Влияние комбинированного воздействия электромагнитного излучения и химических реагентов на биологические системы: Автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.16 \ Е. А. Зотова. Саратов, 2007. 21 с.
85. Иванова С.Н. Фунгициды и их применение // Труды Всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева. 1964. Т.9. С. 56–65.
86. Иванов Ф. М., Горшин С. Н. Биоповреждения в строительстве. М.: Стройиздат, 1984. 320 с.
87. Иванов А.Ю., Вагабов В.М., Фомченков В.М., Кулаев И.С. Исследование влияния полифосфатов клеточной оболочки на чувствительность дрожжей *Saccharomyces carsbergensis* // Микробиология. 1996. Т. 9. С. 56–65.
88. Идессис В.Ф., Рамазанова С.С., Шток Д.А. Биологическое разрушение некоторых материалов грибами // Альгофлора и микофлора Средней Азии. Ташкент, 1976. С. 295–297.
89. Ильичев В.Д. Экологические основы защиты от биоповреждений. М.: Наука, 1985. 266 с.
90. Ильичёв В. Д. На стыке экологии и техники // Биоповреждения в строительстве. М., 1984. С. 4–9.
91. Ильичёв В.Д. Биоповреждения. М.: Высшая школа, 1987. 352 с.
92. Ильичёв В.Д. Техническая экология — проблема биоповреждений. Тезисы докладов конференции «Биоповреждения в промышленности»: В 2 ч. Пенза, 1994. Ч. 2. С. 49.
93. Ильина А.В., Варламов В.П. Энзимология синтеза и деградации хитина и хитозана // Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. М.: Наука, 2002. С. 79–90.
94. Иммиев Я.И., Закомырдин А.А. Способ дезинфекции воздуха // Открытия. Изобретения. 1990, № 8. С. 33.

- 95.Кадыров Ч.Ш. Гербициды и фунгициды как антиметаболиты ферментативных систем. Ташкент: ФАН, 1970. 77 с.
- 96.Каневская И. Г. Биологическое повреждение промышленных материалов. Л.: Наука, 1984. 232 с.
- 97.Каневская И.Г., Орлова Е.И. Микофлора полимерных материалов и особенности ее формирования // Микология и фитопатология. Т.17, Вып. 3. 1983. С. 189–192.
- 98.Карпов В.А., Пелах Р.Л., Самохин Н.Л., Михайлова О.Л., Ковальчук Ю.Л. Система натуральных испытаний материалов и защитных средств от КСБ // Сб. мат. Всерос. конф. «Экологические проблемы биodeградации промышленных, строительных материалов и отходов производств»: Пенза, 1998. С. 67–68.
- 99.Карапетян К.А., Едоян Г.А., Казарян Г.А., Абрамян Д.Г. Испытание грибостойкости полимерных клеев. – В кн.: Первая Всесоюз. конф. по биоповреждениям. М.: Наука, 1978, С.30.
- 100.Каравайко Г.И. Биоразрушение. М.: Наука, 1976. 50 с.
- 101.Карасевич Н.Ю. Экспериментальная адаптация микроорганизмов. М.: Наука, 1975. 179 с.
- 102.Кириллова Л.М. Инвертазная активность сахарозотолерантных и осмофильных микромицетов // Прикладная биохимия и микробиология. 1997. Т. 33, № 1. С. 49–52.
- 103.Киселева О.А., Ярцев В.П. Влияние структуры и состава на прочность, долговечность и водостойкость древесных материалов в строительных изделиях и конструкциях // Строительство и архитектура. 2008. Вып. № 4. С. 91–100.
- 104.Киселева О.А. Влияние термо- и фотостарения на срок службы древесных плит и фанеры в конструкциях одноэтажных жилых зданий / О.А. Киселева, В.П. Ярцев // Строительные и отделочные материалы. Стандарты XXI века: труды XIII международного семинара Азиатско-

- Тихоокеанской академии материалов. — Новосибирск: НГАСУ (Сибстрин). 2006. Т.2. С. 185–187.
- 105.Кириленко Т.С. Атлас родов почвенных грибов. Киев: Наукова Думка, 1977. 128 с.
- 106.Кириллов В.Н., Ефимов В.А., Кислякова В.И., Баритко Н.В., Савенкова А.В., Сытый Ю.В., Костельцев В.В., Вапиров Ю.М. Влияние воздействия влажного субтропического климата на свойства неметаллических материалов // Сб. докл. IV научной конференции по гидроавиации «Гидроавиасалон-2002». Москва. 2002. С. 214–221.
- 107.Коваль Э.З., Пащенко А.А., Крупа А.А., Свидерский В.А. Некоторые особенности грибной коррозии щелочносодержащих алюмосиликатов. — В кн.: Биологические повреждения строительных и промышленных материалов. Киев: Наук. думка, 1978, С. 106–108.
- 108.Коваль Э.З., Михтенштейн В.Н. Заращение ситаллов грибами при пониженных температурах // Биоповреждения. Горький. 1981. Ч. 1. С. 85–86.
- 109.Коваль Э.З., Сидоренко А.И. Повреждение грибами лакокрасочных покрытий на металлах // Микробиол. журн. 1989. Т. 49, № 3. С. 81–84.
- 110.Коваль Э.З., Сидоренко А.И., Сидоренко Л.П. Зависимость грибоустойчивости лакокрасочных покрытий от их гидрофобности // Микробиол. журн. 1987. Т. 7, № 6. С. 49–54.
- 111.Коваль Э.З., Сидоренко Л.И.. Микодеструкторы промышленных материалов / под ред. В.И. Билай. Киев: Наук. думка, 1989. 192 с.
- 112.Ковальский Ю.В. Микробиологическая оценка стойкости лакокрасочных покрытий для условий биотехнологического производства // Тезисы докладов конференции «Биоповреждения в промышленности»: В 2 ч. Пенза, 1994. Ч. 1. С. 35–37.
- 113.Кожокару А.Ф., Кожокару Н.Л., Бурковецкая Ж.И. Механизмы прямого и опосредованного действия через воду низкоинтенсивного радиочастотного ЭМИ на мембранные системы и биологические объекты

- // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2006. № 8-9. С. 58–68.
114. Кондратюк Т.А., Коваль Э.З., Рой А.А. Поражение микромицетами различных конструкционных материалов // Микробиол. журн. 1986. Т. 48, № 5. С. 57–60.
 115. Кондакова И.Э., Яушева Л.С., Ерофеев В.Т., Богатов А.Д. Биостойкость эпоксидно-каменноугольных композитов // Мат. 2-й международ. науч.-техн. конф. «Биоповреждения и биокоррозия в строительстве». Саранск. 2006. С. 224–226.
 116. Коровина И.А., Паншин Б.Н., Стебун Е.А., Самбунова Л.П. Прогнозирование грибоустойчивости полимерных материалов в процессе эксплуатации. В кн.: Первая Всесоюз. конф. по биоповреждениям. М.: Наука, 1978, С. 33.
 117. Коровина И.А., Полякова А.В., Шавлохова Г.Н., Сабун Е.А. Грибостойкость неметаллических материалов в природных условиях // «Биоповреждения в промышленности»: Межвуз. сб. Горький, 1983. С. 75–78.
 118. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. М.: Высшая школа, 1980. С. 5–49.
 119. Кошкин М.Л. Ультрафиолетовое излучение как средство обеззараживания // Ультрафиолетовое излучение, под. ред. Г. М. Франка, Г. С. Варшавера, Н. М. Данцига и М. В. Соколова, сборник третий. Государственное издательство медицинской литературы, Медгиз, Москва, 1960. С. 187–192
 120. Крыницкая А.Ю., Суханов П.П., Седельников Ю.Е., Астраханцева М.Н., Гамаюрова В.С. Влияние последствий КВЧ-излучения на активность хлебопекарных дрожжей: Миллиметров. волны в биол. и мед., 2004, № 4, С. 17–27.

121. Кузнецов А.В., Градова Н.Б., Лушников С.В., Энгельхарт М., Вайссер Т., Чеботаева М.В. Прикладная биотехн.: учебн. пособие, в 2 т. Т.2 / А.В. Кузнецов (и др.) – М.: Бином лабораторных знаний, 2010. – 485 с.
122. Кулик Е.С., Виноградова Л.М., Карякина М.И. Влияние метаболитов грибов на физико-механические свойства лакокрасочных покрытий // Биологические повреждения строительных и промышленных материалов. Киев: Наукова думка, 1978. С. 63–67.
123. Кулик Е.С., Карякина М.П., Виноградова Л.М. Роль изучения экологии грибов в определении грибостойкости лакокрасочных покрытий // Микроорганизмы и низшие растения — разрушители материалов и изделий. М., 1979. С. 90–96.
124. Кулик Е.С. Биостойкость лакокрасочных покрытий // Биоповреждения в строительстве. М., 1984. С. 276–290.
125. Кулешова Л.И., Пустоветова Е.В. Инфекционная безопасность в лечебно-профилактических учреждениях. Ростов-на-Дону: «Феникс». 2006. 316 с.
126. Куманова О.Д., Ивченко Г.М. Руководство по практическим занятиям по биологической химии. М.: Медицина, 1974. 724 с.
127. Курс низших растений / Под ред. М.В. Горленко. М.: Высшая шк., 1981. 504 с.
128. Кучерявых П.С. Хитинолитическая активность некоторых мицелиальных грибов – продуцентов гидролаз // Тезисы докладов 6-й молодёжной научной конференции «Актуальные проблемы биологии и экологии». Сыктывкар, 1999. С. 120–121.
129. Легонькова О.А., Селицкая О.В. Микробиологическая деструкция композиционных полимерных материалов в почвах // Почвоведение, 2009. № 1. С. 71–78.
130. Легонькова О.А. Биотехнология утилизации органических отходов путем создания гибридных композитов. Автореферат докторской диссертации. Москва. 2009. 48 с.

- 131.Литвинов М.А. Определитель микроскопических почвенных грибов. Ленинград: Наука, 1967. 304 с.
- 132.Лугаускас А.С., Стакишайтите Р., Капланас Ш. Микроскопические грибы на материалах, применяемых в радиотехнической промышленности. - В кн.: Первая Всесоюз. конф. по биоповреждениям.: Тез. докл. М.: Наука, 1978, С.15–16
- 133.Лугаускас А.Ю., Репечкене Ю.П. Микроскопические грибы, повреждающие полимерные материалы в естественных условиях // Биологическое повреждение материалов. Вильнюс, 1979. С. 65–71.
- 134.Лугаускас А.Ю., Григайтите Л.М., Репечкене Ю.П., Шляужене Д.Ю. Видовой состав микроскопических грибов и ассоциации микроорганизмов на полимерных материалах // Актуальные вопросы биоповреждений. М.: Наука, 1983. С. 71–77.
- 135.Лугаускас А.Ю., Микульскене А.Н., Шляужене Д.Ю. Каталог микромицетов-биодеструкторов полимерных материалов М.: Наука, 1987. 340 с.
- 136.Лугаускас А.Ю., Левинскайте Л.И., Лукшайте Д.И. Поражение полимерных материалов микромицетами //Пластические массы. 1991. №2. С. 24–28.
- 137.Любавина Н.П., Анисимов А.А., Заботин К.П., Антипова И.Н., Шебалина Т.Н. Защита синтетического клея на основе поливинилацетатной дисперсии от биологической коррозии. - В кн.: Биологические повреждения строительных и промышленных материалов. Киев: Наук. думка, 1978, С.79–80.
- 138.Малкин А.Я., Акдский Л.Л., Коврина В.В. Методы измерения механических свойств полимеров. М.: Химия, 1978. 336 с.
- 139.Мельников Н.Н. Химия пестицидов. М., 1968. 495 с.
- 140.Мирчник Т.Г. Почвенная микология. М.: Изд-во Московского университета, 1976. 206 с.

141. Михайлова Р.В., Сапунова Л.И., Колесникова С.С. Зависимость ферментативной активности грибов рода *Penicillium* от источника питания // Контроль и управление биотехнологическими процессами. Горький. 1985. С. 68.
142. Михайлова Р.В., Захаренко И.Н., Лобанок А.Г. Влияние компонентов питательной среды и условий культивирования на образование внеклеточных эстераз *Aspergillus carbonarius* и *Aspergillus varians* // Прикладная биохимия и микробиология. 1994. Т. 30, № 1. С. 35–41.
143. Мороз А.Ф., Катаев С. В., Самойленко И. И. и др. Использование ионизирующего излучения для стерилизации альгинатных покрытий, содержащих различные антибактериальные препараты // Антибиотики, 1981, №2. С.92–96.
144. Наплекова Н.Н., Абрамова Н.Ф. О некоторых вопросах механизма воздействия грибов на пластмассы // Известия СО АН СССР. Серия биология. 1976. № 3. С. 21–27.
145. Нетрусов А.И. Экология микроорганизмов: учебник для бакалавров. М.: Юрайт, 2013. 268 с.
146. Николаенко В.В., Таран Г.Ф., Каневская И.Г., Орлова Е.И. Зависимость микологической поражаемости материалов от условий натуральных испытаний. - В кн.: Биологические повреждения строительных и промышленных материалов. Киев: Наук. думка, 1978. С. 52–57.
147. Новикова Н.Д. Влияние микробного фактора на полимерные материалы, оснащение и оборудование, используемые в пилотируемых космических аппаратах // Тез. докл. конф. «Биоповреждения в промышленности»: В 2 ч. Пенза, 1994. Ч. 2. С. 24–25.
148. Нюкша Ю.П. Предохранение бумаги книг от повреждения грибами // Теория и практика сохранения книг в библиотеке. Л.: Гос. Публ. Биб-ка им. М.Е. Салтыкова-Щедрина. 1983. Вып. 11. С. 5–34.

- 149.Нюкша Ю.П. Жизнь на антропогенных субстратах как новая экологическая ниша // Современные проблемы биологических повреждений материалов. Пенза, 2002. С. 5–7.
- 150.Орлов В.Г., Клячко Е.В., Шакулов Р.С. Некоторые характеристики рибосом микромицетов после прекращения роста культур // Биохимия. 1974. Т. 39. Вып. 2. С. 426–431.
- 151.Останенков А.М. К вопросу о воздействии электромагнитных полей на микроорганизмы // Электронная обработка материалов. 1981. № 2. С. 62–66.
- 152.Павлов Н.Н. Старение пластмасс в естественных и искусственных условиях. М.: Химия, 1982. 224 с.
- 153.Павлова И.А., Апрелева М.В., Колмакова Е.А. Экология микромицетов, повреждающих оптические детали и предметы музейного хранения // Труды биологич. НИИ Санкт-Петербургского государственного ун-та: Экология грибов, теоретические и прикладные аспекты. СПб.: СПбГУ, 1992. С. 173–194.
- 154.Панкратов А.Я. Микробиология. М.: Колос, 1971. 272 с.
- 155.Паутените Л.П., Лугаускас А.Ю. Распространение меланинсодержащих микромицетов на полимерных материалах // 2-я Всесоюзная конференция по биоповреждениям: В 2 ч. Горький, 1981. Ч. 1. С. 31–32.
- 156.Пашкявичус А.Ю., Лугаускас А.Ю. Грибы в процессах повреждения древесины // Тезисы докладов конференции «Биоповреждения в промышленности»: В 2ч. Пенза, 1993. Ч. 2. С. 13–14.
- 157.Петрунин А.Д., Пронькин А.П., Ерофеев В.Т., Богатов А.Д., Морозов Е.А. Долговечность асфальтобетонов в условиях воздействия биологически агрессивных сред // Мат. 2-й междунаро. науч.-техн. конф. «Биоповреждения и биокоррозия в строительстве». Саранск. 2006. С. 217–222.
- 158.Пирузен Л.А. Действие физиологически активных соединений на биологические мембраны. М.: Наука, 1974. 235 с.

- 159.Покровская Е.Н. Химико-физические основы увеличения долговечности древесины. М.: АСВ, 2003. 100 с.
- 160.Покровская Е.Н., Шестерикова Н.В. // «Биоповреждения и биокоррозия в строительстве» Мат. 2-й международ. науч.-техн. конф. Саранск: Изд-во Мордовского ун-та. 2006. С. 235–238.
- 161.Поликарпов Н.А., Новикова Н.Д., Дешевая Е.А., Гольдштейн Я.А., Шашковский С.Г. Защита конструкционных материалов от биоповреждений и перспективы использования импульсных ксеноновых ультрафиолетовых устройств // «Биоповреждения и биокоррозия в строительстве» Мат. 2-й международ. науч.-техн. конф. Саранск: Изд-во Мордовского ун-та. 2006. С. 257–260.
- 162.Пронькин С.П., Морозов Е.А., Иванова И.А., Ерофеев В.Т. Моделирование биodeградации битумных композитов // Мат. 2-й международ. науч.-техн. конф. «Биоповреждения и биокоррозия в строительстве». Саранск. 2006. С. 32–34.
- 163.Пруденко М.М., Соломахина В.М. Состояние изучения микобиоты Каневского заповедника // Заповед. справа. Украины. 1996. С. 17–19.
- 164.Ребрикова Н.Л., Назарова О.Н., Дмитриева М.Б. Микромицеты, повреждающие строительные материалы в исторических зданиях, и методы контроля // Конференция «Биологические проблемы экологического материаловедения»: Материалы конф. Пенза, 1995. С. 59–63.
- 165.Репечкене Ю.П. Выделение и характеристика стрептомицетов, развивающихся в комплексах микроорганизмов на полиамидных материалах // Выделение, идентификация и хранение микромицетов и других микроорганизмов. Вильнюс, 1990. С. 138–141.
- 166.Реутов А.И. Прогнозирование климатической стойкости полимерных материалов, применяемых в строительстве // Вестник ТГАСУ. 2009. № 2. С. 127–141.

- 167.Розенталь Н.К. Биокоррозия канализационных коллекторов и их защита // Тез. докл. конф. «Биоповреждения в промышленности»: В 2 ч. Пенза, 1994. Ч. 2. С. 54–55.
- 168.Ротенберг Ю.С., Кольман Г.П. Ингибирование процессов дыхания и фосфорилирования производных малеимида // Биохимия. 1985. Т. 40, № 3. С. 489–496.
- 169.Рубан Е.Л., Казанина Г.А., Петрова Л.Я., Селезнёва А.А. Сравнительное изучение свойств липаз микробного происхождения // Прикладная биохимия и микробиология. 1976. Т. 12, № 4. С. 537–542.
- 170.Рудакова А.К. Микробиологическая коррозия полимерных материалов (поливинилхлоридные пластики и полиэтилен), применяемых в кабельной промышленности и способы ее предупреждения //Автореферат кандидатской диссертации. М.: МГУ, 1969. С. 12-24.
- 171.Рудакова А.К. Поражение микроорганизмами полимерных материалов и способы их предупреждения: микроорганизмы и низшие растения – разрушители материалов и изделий. М. 1979. С. 28-33.
- 172.Садаускас К.К., Лугаускас А.Ю., Микульскене А.И. Влияние постоянного и импульсного низкочастотного магнитного поля на микроскопические грибы // Микология и фитопатология. 1987. Т. 21, вып.2. С. 160–163.
- 173.Самойлова К.А. Действие ультрафиолетового излучения на клеточные структуры и метаболизм// Ультрафиолетовое излучение, под ред. проф. Н.М. Данцига, пятый сборник. Издательство «Медицина», М., 1971. С.98-104.
- 174.Саттон Д. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М.: Мир, 2001. 487 с.
- 175.Сергеева Л.Е. Роль абиотических факторов при биоповреждении целлюлозы // Тезисы докладов конференции «Биоповреждения в промышленности»: Пенза, 1994. Ч. 1. С. 4–5.

- 176.Серенсон У., Кемпбел Т. Препаративные методы химии полимеров. М.: Изд-во иностр. лит. 1963. С. 70.
- 177.Серкова Т.А., Смирнов В.Ф. Изменение диэлектрических характеристик некоторых радиотехнических изделий вследствие биоповреждений плесневыми грибами // 2-я Всесоюзная конференция по биоповреждениям: В 2 ч. Горький, 1981. Ч. 1. С. 75–76.
- 178.Сизова Т.П., Бабьева Е.Н. Экологические и морфологические особенности почвенных микромицетов из разных природных зон // Микология и фитопатология. Т. 15. Вып. 3. 1981. С. 197–200.
- 179.Симко М.В. Скрининг экологически безопасных средств защиты ПВХ-материалов от биоповреждений микромицетами на основе изучения продукции индолил-3-уксусной кислоты. Автореферат кандидатской диссертации. Н. Новгород. 2002. – 24 с.
- 180.Синицын Н.И., Петросян В.И., Ёлкин В.А., Девятков Н.Д., Гуляев Ю.В., Бецкий О.В. Особая роль системы «миллиметровые волны - водная среда» в природе. Биомедицинская радиоэлектроника, 1999. № 1. С.3–21.
- 181.Сливкин А.И., Семменев В.Ф., Суховерхова Е.А. Физико-химические и биологические методы оценки качества лекарственных средств. Воронеж: Изд-во Воронежского госуниверситета, 1999. 368с.
- 182.Смирнов В.Ф., Анисимов А.А., Семичева А.С., Плехута Л.П. Действие фунгицидов на интенсивность дыхания гриба *Aspergillus niger* и активность ферментов каталазы и пероксидазы // Сб. «Биохимия и биофизика микроорганизмов». Горький, 1976. № 4. С. 9–13.
- 183.Смирнов В.Ф., Анисимов А.А., Семичева А.С., Шевелева А.Ф. Влияние фунгицидов на диэлектрические свойства эпоксидного компаунда КД-4 //Пластические массы. 1977. №1. С. 63.
- 184.Смирнов В.Ф., Семичева А.С., Смирнова О.Н., Захарова Е.А. Агрессивные метаболиты грибов и их роль в процессе деградации материалов различного химического состава // Конференция

- «Биологические проблемы экологического материаловедения»: Материалы конф. Пенза, 1995. С. 82–86.
185. Смирнов В.Ф., Семичева А.С., Смирнова О.Н., Микушова Н.В. Исследование ингибирующего действия ряда полиалкиленгуанидинов на оксидоредуктазы грибов в связи с деструкцией эпоксидных полимеров // Тез. докл. 2-го биохимического съезда России. М., 1997. С. 233.
186. Смирнов В.Ф., Семичева А.С., Смирнова О.Н., Перцева А.Д. К вопросу оценки грибостойкости материалов в некоторых отечественных стандартных методах испытаний // Микология и фитопатология. 2000. Т. 34, вып. 6. С. 50–55.
187. Смирнов В.Ф., Веселов А.П., Семичев А.С., Смирнова О.Н., Захарова Е.А. Экологические и биологические аспекты деструкции промышленных материалов микроорганизмами: Учебное пособие. Н.Новгород: Изд-во ННГУ, 2002. 99 с.
188. Смирнова О.Н. Роль сообществ микромицетов в биоповреждении полимерных материалов на предприятиях агропромышленного комплекса: Автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.16\ О.Н. Смирнова. Н. Новгород, 2000. 26 с.
189. Смирнова Л.А., Семчиков Ю.Д., Тихобаева Я.Г., Пастухова Н.В. Привитая полимеризация метакрилата на хитозан // Высокомолекулярные соединения сер. Б. 2001. Т. 43, № 12. С. 353–356.
190. Соломатов В.И., Селяев В.П. Химическое сопротивление композиционных строительных материалов. М.: Стройиздат, 1987. 264 с.
191. Соломатов В.И., Черкасов В.Д., Ерофеев В.Т. Строительные биотехнологии и биокompозиты. М.: Стройиздат, 1998. 166 с.
192. Соломатов В.И., Ерофеев В.Т., Смирнов В.Ф., Семичева А.С., Морозов Е.А. Биологическое сопротивление материалов. Саранск: Изд-во Мордовского ун-та. 2001. 195 с.
193. Стакишайтите-Инсодене Р.В. Микроскопические грибы — агенты биоповреждений синтетических полимерных материалов, применяемых в

- радиопромышленности // 2-я Всесоюзная конференция по биоповреждениям: В 2 ч. Горький, 1981. Ч. 1. С. 29–30.
194. Сухаревич В.И., Кузикова И.Л., Медведева Н.Г. Защита от биоповреждений, вызываемых грибами. СПб: «ЭЛБИ-СПБ». 2009. 206 с.
195. Сухарева Л.А., Балавинцева Е.К., Сергиенко Т.Е. Грибостойкие антикоррозионные покрытия для защиты пищевого оборудования // Конференция «Биологические проблемы экологического материаловедения»: Материалы конф. Пенза, 1995. С. 86–89.
196. Тарасова Н.А., Фельдман М.С., Любавина Н.П., Дятлов Ю.С. Защита от биоповреждений ряда систем лакокрасочных и клеящих покрытий, применяемых в радиотехнике и приборостроении // 2-я Всесоюзная конференция по биоповреждениям: В 2 ч. Горький, 1981. Ч. 1. С. 45–46.
197. Твердохлебова И.И. Конформация макромолекул (вискозиметрический метод оценки). М.: Наука, 1987. 288 с.
198. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. М.: Агропромиздат, 2004. 233 с.
199. Тульчинская В.П., Мишнаевский М.С., Юргелайтис Н.Г. и др. Грибостойкость некоторых конструкционных и декоративно-отделочных пластмассовых материалов. В кн.: Первая Всесоюз. конф. по биоповреждениям.: Тез. докл. М.: Наука, 1978, С.24–25.
200. Туманов А.А., Филимонова И.А. Фунгицидное действие неорганических ионов на виды грибов рода *Aspergillus* // Микология и фитопатология. 1976. Т. 10, № 3. С. 141–145.
201. Туркова З.А. Повреждения некоторых технических материалов грибами // Материалы 1-й Всесоюзной школы по биокоррозии, биоповреждениям, обрастаниям. М., 1976. С. 71–80.
202. Уржумцев Ю.С., Черский И.Н. Научные основы инженерной климатологии полимерных и композитных материалов // Механика композитных материалов. 1985. № 4. С. 708–714.

203. Утевский Н.Л. Медицинская микробиология и микробиологическая техника. М.: Медгиз, 1956. 370 с.
204. Узб Л.Д. Ингибиторы ферментов и метаболизма. М.: Мир, 1966. 862 с.
205. Феофилова Е.П. Клеточная стенка грибов. М.: Наука, 1983. 248 с.
206. Феофилова Е.П. Биологические функции и практическое использование хитина // Прикл. биохимия и микробиология, 1984. Т. XX, Вып. 2. С. 147–160.
207. Фельдман М.С., Ерофеев В.Т., Шляпникова М.А., Лоскучерявая Н.К., Стручкова И.В., Веселов А.П. Биологическое сопротивление полимерных композитов // Матер. конф. «Биоповреждения в промышленности». Пенза. 1993. С. 84–86.
208. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Москва, 2005. 827 с.
209. Харкевич Е.С., Москаленко Т.М., Сахарова Т.Г., Федченко В.А., Жданова Н.Н. Грибостойкость хитина и хитозана: критерии её оценки // Микология и фитопатология. 2002. Вып. 36, № 1. С. 48–54.
210. Хиггинс И. Биотехнология: принципы и применение. М.: Мир, 1988. 479 с.
211. Ховрычев М.П., Андреева Е.А., Лирова С.А., Голубович В.Н., Помазкова В.А., Рябчук В.А., Федорович Р.М. Влияние H^+ , OH^- , Cu^{2+} и Ag^+ на аминокислотный состав клеток хемиостатной культуры *Candida utilis* // Микробиология. 1976. Т. 55, № 3. С. 437–439.
212. Черушова Н.В., Ерофеев В.Т., Смирнов В.Ф., Соломатов В.И. Биостойкость лакокрасочных материалов // III Всероссийская конференция «Экологические проблемы биodeградации промышленных, строительных материалов и отходов производств»: Сб. материалов. Пенза, 2000. С. 76–79.
213. Черушова Н.В., Афонин В.В., Митина Е.А., Ерофеев В.Т. Методика оценки изменения декоративных свойств лакокрасочных материалов под действием биологических факторов // Мат. международ. науч.-техн. конф.

- «Биоповреждения и биокоррозия в строительстве». Саранск. 2004. С. 100–104.
214. Черский И.Н., Филатов И.С. Некоторые вопросы инженерной климатологии полимеров // *Modeling of environmental effects on electrical and general engineering equipment*. Praga. 1980. Vol. I. P. 23–31.
215. Шаб Г.М. Действие миллиметровых волн на бактерии в экспериментах *in vitro* и *in vivo* // Доклады 10-го Всероссийского симпозиума «Миллиметровые волны в биологии и медицине», 24–26 Апр. 1995, Москва, С. 95–97.
216. Шестопалова Н.Г. Влияние миллиметровых волн на клетки растений // 2-й Съезд биофизиков России, Москва, 23–27 авг., 1999: Тез. докл. Т. 3. М. 1999. с. 858–859.
217. Шпотюк О.И., Коваль Э.З., Мруз К.Я., Сидоренко Л.П. Исследование и прогнозирование грибостойкости изделий электронной техники // Тез. докл. конф. «Биоповреждения в промышленности»: Пенза, 1994. С. 33–35.
218. Элланская И.А., Соколова Е.В., Курченко И.Н. Влияние микроэлементов на морфогенез некоторых видов грибов рода *Fusarium* // Микробиология. 1993, № 55. С. 19–28.
219. Яскелявичус Б.Ю., Мачюлис А.Н., Лугаускас А.Ю., Репечкене Ю.П., Григайтите Л.М. Изменение механических свойств синтетических материалов, испытываемых в натуральных условиях // Биологическое повреждение материалов. Вильнюс, 1979. С. 149–159.
220. Яскелявичус Б.Ю., Мачюлис А.Н., Григайтите Л.М., Лугаускас А.Ю. К вопросу агрессивности микробиологических факторов при испытании неметаллических материалов в натуральных условиях // 2-я Всесоюзная конференция по биоповреждениям: В 2 ч. Горький, 1981. Ч. 1. С. 33–34.
221. Ak O., Bakir U., Guray T. Production, purification and characterization of chitozanase from *Penicillium spinulosum* // *Biochem. Arch.* 1998. V. 14, № 4. P. 221–225.

222. Albertson A.C., Randu B. Biodegradation of synthetic polymers the C¹⁴-method applied to polyethylenes // Proc. 3-rd Ytern. Biodegradat. Symp. Kingston. 1976. P. 743–751.
223. Alfonso C., Nuero O. M., Santamaria E. // Curr. Microbiol. 1995. V. 30. P. 49–54.
224. Aswin Kumar A., Karthick K., Arumugam K.P. Properties of Biodegradable Polymers and Degradation for Sustainable Development // International Journal of Chemical Engineering and Applications. 2011. Vol. 2, № 3. P. 164–167.
225. Aurand L.W., Roberts W.M., Cardwell J.T. A method for the estimation of peroxidase activity in milk. // Journal of Dairy Science. 1956. V. 39, No. 5. P. 568–573.
226. Bastioli C. Handbook of Biodegradable Polymers. Bastioli: Rapra Technology Limited. 2005. 545 p.
227. Beulon G. Biodeterioration des revêtements peints // Mater. et. tech. 1990. V. 78. P. 14–16.
228. Booth G.H. Microbiological corrosion. London: Mills and Boon Ltd. 1971. 63 p.
229. Coretzki J. Microbiologische Einflüsse auf nichtmetallisch-anorganische Baustoffe // Bauzeitung. 1988. V. 42, № 3. P. 109–112.
230. Chiellini E., Meisel I. Recent Advances in Biodegradable Polymers and Plastics. Wiley, Somerset New Jersey U.S.A.: John & Sons. 2003. 466p.
231. Dinter S., Bungert U., Siefert E. // In: Advan. Chitin Sci. M. G. Peter, A. Domard, R. A. A. Muzzarelli, eds. Potsdam. University of Potsdam. 2000. V. 4. P. 506–510.
232. Dixit V.W. The effect of fungal growth on polyurethane foam // J. Sci. and Technol. 1971. V. 9. №1. P. 77–78.
233. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.N. Compendium of soil fungi. London: Acad. Press, 1980. 895 p.

234. Fraderio G., Albo S., Zanardini E., Sorlini C. Research on chromatic alternation of marbles from the fountain of Villa Litta // 6th Int. Symp. Microb. Ecol. Barcelona, 1992. P. 291.
235. Gao X.D., Katsumoto T., Onodera K. // J. Biochem. 1995. V. 117. P. 257–263.
236. Gamzazade A.I., Shlimak V.M., Skljär A.M., Stykova E.V., Pavlova S.A., Rogozin S.V. // Acta Polymerica. 1985. V. 36. №8. P. 421–424.
237. Griffin G. Chemistry and Technology of Biodegradable Polymers. NY: Chapman and Hall. 1994. 127 p.
238. Grundler W., Keilmann F. Sharp Resonances in Yeast Growth Prove Newthermal Sensitivity in Microwaves // Phys. Rev. Letters. 1983. Vol. 51, №13. P. 1214–1216.
239. Haraguchi T., Hayashi E., Takahachi V. Etal. Degradation of lignin-related polystyrene derivatives by soil microflora and micromonospora sp. // Proc. 4th Intern. Biodeterior. Symp. L., 1980. P. 123–126.
240. Huber R., Stohr J., Hohenhaus S., Rachel R., Burgraf S., Jannasch H., Stetter K. *Thermococcus chitonofagus* sp. nov., a novel, chitin-degrading, hydrothermal vent environment // Arch. Microbiol. 1995. V. 164, № 4. P. 255–264.
241. Jaenicke R. Enzymes under extremes of physical conditions // Ann. Rev. Biophys. And Bioeng. 1981. V. 10. №1. P. 1–67.
242. Jackson D.T., Saunders V.A., Gooday G.V., Humphereys A.M. Chitinase activities from yeast and hyphal calls of *Candida albicans* // Mycol. Res. 1996. V. 100, № 3. P. 321–327.
243. Kafetzopoulos D., Martinou A., Bouriotis V. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993. V. 90. P. 2564–2568.
244. Kodaira R., Shimosaka M., Okazaki M. Purification and characterization of chitosanase and exo- β -D-glucosaminidase from a koji mold, *Aspergillus oryzae* IAM2660 // Biosci., Biotechnol. and Biochem.. 2000. Vol. 64, № 9, P. 1896–1902.

- 245.Kopecku J., Hodrova B. // *Folia Microbiol.* 2000. V. 45. P. 465–468.
- 246.Kryazhev D.V., Plokhov R.A., Tkachenko U.A. et.al. Low intensity physical influences use for increasing asepticity of biotechnological processes and microbiological cleanness in living accommodation // *Biotechnology in medicine, foodstuffs, biocatalysis and environment.* New York: Nova Science, 2010. P.115–123.
- 247.Kushner D. J. *Extreme environments // Contemporary microbial ecology.* L.: Acad. press. 1980. P. 29–54.
- 248.Laroussi M. Nonthermal decontamination of biological media by atmospheric-pressure plasmas: review, analysis, and prospects // *Plasma Sci. Soc.* 2002. V.30. № 4. P. 1409–1415.
- 249.Leja K., Lewandowicz G. Polymer Biodegradation and Biodegradable Polymers – a Review // *Polish J. of Environ. Stud.* 2010. Vol. 19. № 2, P. 255–266.
- 250.Lowry O.H., Rosbraigh N.J., Farr A.L. Protein measurement with the folinphenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. V. 193, № 2. P. 265–275.
- 251.Miller G.L. Use of Dinitrisalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar // *Anal. Chem.* 1959. V. 31. № 3. P. 426–428.
- 252.Onions A.H.S., Allsop S., Eggins H.O. *Smith's introduction to industrial mycology.* Lorder Edn. Azn. 1981. 401p.
- 253.Ostrowski R., Meyer B., Fischer G., Bey M., Weinshoff-Houben M., Dott W. Occurrence of Air-borne and Dust-bound Moulds in Indoor environment // *Zentralbl. Hyg. und Umweltmed.* 1997. V. 199, № 5. P. 451–452.
- 254.Palmer R.J., Siebert Jorg, Hirsch P. Biomass and organic acids in sandstone of a weathering building: production by bacterial and fungal isolates // *Microbiol. Ecol.* 1991. V. 21. №3. P. 253–266.
- 255.Patterson B.D., Payne L.A., Chen Yi-Zhu, Grahman P. An inhibitor of catalase induced by cold in chilling-sensitive plants // *P. Physiol.* 1984. Vol.76. № 4. P. 1014–1018.

256. Park Jong-Chul, Matsuoka Hideaki, Takatori Kosuke, Kurata Hiroshi. Adaptation of *Aspergillus niger* to acidic conditions and its relationship to salt stress and miconazole // Mycol. Res. V. 100, № 7. 1996. P. 869–874.
257. Pirth S. J. Microbial degradation of synthetic polymers // Chem. Technol. And Biotechnol. 1980. Vol. 30, № 4. P. 176–179.
258. Platt D.K. Biodegradable polymers: Market Report. Rapra Technology Limited. 2006. P. 160.
259. Premraj R., Mukesh D. Biodegradation of polymers // Indian Journal of Biotechnology. 2005. Vol. 4. P. 186–193.
260. Raetz E., Leuba J.-L., Giambatista D., Federici F., Fenice M. Chitinolytic enzymes production by *Penicillium janthinellum* // Soc. Des Produits Nestle S. A. № 97201833.7. 1997.
261. Raper K.B., Thom Ch., Fennel D.I. A manual of the *Penicillia*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1949. 875 p.
262. Ross R. T. Biodeterioration of paint and films // J. Paint. Technol. 1969. № 41. P. 266–274.
263. Saad R. R. Fungi of biodeteriorated paint film and thier cellulolytic actiwyty // Zbl. mocrbiol. 1992. V. 147, № 6. P. 427–430.
264. Savitha J., Subramanian C. V. Composition and enzyme activities in *Aspergillus flavipes* grown on crude petroleum oil and glucose // Curr. Sci. (India). 1995. Vol.69, № 7. P. 596–600.
265. Shoji O., Tadatosi K., Yuzuru M., Akikazu A. Purification and some properties of chitosanase of *Nocardiodides sp.* // J. Gen. And Appl. Microbiol. 1995. V. 41, № 4. P. 351–357.
266. Sietsma J.H., Wosten H.A.B., Wessels J.G.H. Cell wall growth and protein secretion in fungi // Can. J. Bot. 1995. Vol. 73. Suppl. 1 Sec. A-D. P. 388–395.
267. Simonovicova A., Francova E., Vybohova M. Microfungi of acidificated region of Banska Stiavnica – Sobov // Miner. slov. V. 28, №. 5. 1995. P. 355–356.

268. Smith R. Biodegradable Polymers for Industrial Applications. London: Princeton University Press. 2002. P. 238.
269. Thomas G.A. Microbiological and allied aspect. In.: Biodeterioration of materials. N. – Y.: Elsevier, 1968. P. 506–516.
270. Tirpak G. Microbiol degradation of plasticized P.V.C. // Sp. J. 1970. Vol. 26, № 7. P. 26–30.
271. Tsigos I., Bouriotis V. // J. Biol. Chem. 1995. 1995. V. 270. P. 26286–26291.
272. Traderio G., Albo S., Zanardini E., Sorlini C. Research on chromatic alternation of marbles from the fountain of Villa Litta // 6th Int. Symp. Microb. Ecol. Barselona. 1992. P. 291.
273. Ulhoa C.J., Peberdy J.F. *Trichoderma harizantum*. Regulation of chitinase synthesis in *Trichoderma harizantum* // J. Gen. Microbiol. 1991. V. 137, № 9. P. 2163–2169.
274. Webb S.J., Dodds D.D. Inhibition of bacterial cell growth by 136 gc microwaves // Nature. 1968. Vol. 218. P. 374–375.
275. Zammit G., Psaila P., Albertano P. An investigation into biodeterioration caused by microbial communities colonizing artworks in three Maltese palaeo-christian catacombs // 9-th International Conference on NDT of Art, Israel: Jerusalem. 2008. P. 1–10.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Рекомендации по созданию биостойких полимерных композиций

Данный комплекс мероприятий может быть успешно использован на стадии экспериментального синтеза новых полимерных композиционных материалов.

В основу данной методики положен предлагаемый нами комплексный подход к оценке и прогнозированию процессов деструкции микромицетами полимерных материалов, основанный на учете воздействия абиотических факторов среды на всех участников биоповреждающего процесса.

Этап 1.

- 1.1. Исследование грибостойкости всех компонентов входящих в состав полимерной композиции по стандартной методике ГОСТа 9.049-91.
- 1.2. Выявление устойчивых и неустойчивых к действию микромицетов-деструкторов компонентов, а также ингредиентов, обладающих фунгицидным действием.
- 1.3. Получение полимерных композиций, включающих в состав только грибостойкие или фунгицидные ингредиенты, если это возможно.
- 1.4. Проведение стандартных испытаний по оценке грибостойкости композиции (ГОСТ 9.049-91, 9.050-75) с добавлением к стандартным тест-культурам видов грибов, рост которых был обнаружен на аналогичных полимерных материалах в процессе их эксплуатации

Этап 2.

- 2.1. Выявление грибов – истинных деструкторов полимерного материала.

Этап 3.

- 3.1. Исследования по выявлению изменений основных физико-химических свойств материалов вследствие действия на них микроскопических грибов (физико-химические показатели определяются индивидуально для конкретного полимерного материала).

3.2. Исследование изменений основных физико-химических показателей полимерных материалов под воздействием на них ряда абиотических факторов (влажности, высокой температуры, ультрафиолетового излучения).

3.3. Исследование изменений основных физико-химических характеристик полимерных материалов, подвергшихся действию абиотических факторов и микроицетов-деструкторов.

Этап 4.

4.1. Биохимическое тестирование грибов – истинных деструкторов с целью оценки возможных начальных механизмов (путей) деструкции полимерного материала в зависимости от состава агрессивных метаболитов грибов:

- а) тесты на ферменты оксидоредуктазы;
- б) тесты на ферменты гидролазы.

Этап 5.

5.1. Подбор биоцидных добавок способных ингибировать синтез агрессивных метаболитов грибов-деструкторов конкретных полимерных материалов на основе биохимических тестов.

5.2. К биоцидным препаратам предъявляется ряд требований:

5.2.1. Биоцидные препараты должны выпускаться промышленным способом

5.2.2. Биоцидные препараты должны обладать низкой экологической нагрузкой (4 класс опасности)

5.2.2.1. Выбор класса опасности предлагаемого средства защиты определяется следующим:

- а) назначением полимерного материала (промышленное или бытовое);
- б) возможностью и частотой контакта защищенной биоцидом полимерной композиции с человеком

5.2.3. Биоцидные препараты должны иметь санитарно-гигиенические сертификаты

5.2.4. Биоцидные препараты должны использоваться для защиты промышленных и жилых помещений.

Этап 6.

6.1. Проведение испытаний на грибостойкость полимерной композиции, содержащей биоцидную добавку (ГОСТ 9.049-91, 9.050-75).

Этап 7.

7.1. Проведение испытаний на микробиологическую стойкость полимерных материалов, содержащих биоцидную добавку в природных условиях по ГОСТ 9.053-75. Эти испытания позволят выявить влияние условий эксплуатации на биозащитный эффект используемых биоцидных присадок.