



УДК 620.165.79

**ИСПЫТАНИЯ НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ
СТОЙКОСТЬ В УСЛОВИЯХ ТЕПЛОГО И ВЛАЖНОГО
КЛИМАТА**

А.В. Полякова

А.А. Кривушина

Ю.С. Горяшник

Т.В. Яковенко

Июль 2013

Всероссийский институт авиационных материалов (ФГУП «ВИАМ» ГНЦ) – крупнейшее российское государственное материаловедческое предприятие, на протяжении 80 лет разрабатывающее и производящее материалы, определяющие облик современной авиационно-космической техники. 1700 сотрудников ВИАМ трудятся в более чем тридцати научно-исследовательских лабораториях, отделах, производственных цехах и испытательном центре, а также в четырех филиалах института. ВИАМ выполняет заказы на разработку и поставку металлических и неметаллических материалов, покрытий, технологических процессов и оборудования, методов защиты от коррозии, а также средств контроля исходных продуктов, полуфабрикатов и изделий на их основе. Работы ведутся как по государственным программам РФ, так и по заказам ведущих предприятий авиационно-космического комплекса России и мира.

В 1994 г. ВИАМ присвоен статус Государственного научного центра РФ, многократно затем им подтвержденный.

За разработку и создание материалов для авиационно-космической и других видов специальной техники 233 сотрудникам ВИАМ присуждены звания лауреатов различных государственных премий. Изобретения ВИАМ отмечены наградами на выставках и международных салонах в Женеве и Брюсселе. ВИАМ награжден 4 золотыми, 9 серебряными и 3 бронзовыми медалями, получено 15 дипломов.

Возглавляет институт лауреат государственных премий СССР и РФ, академик РАН, профессор Е.Н. Каблов.

Статья подготовлена для опубликования в журнале «Труды ВИАМ»,
№7, 2013 г.

А.В. Полякова, А.А. Кривушина, Ю.С. Горяшник, Т.В. Яковенко

ИСПЫТАНИЯ НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ СТОЙКОСТЬ В УСЛОВИЯХ ТЕПЛОГО И ВЛАЖНОГО КЛИМАТА

Биологическому повреждению подвержены практически все материалы и изделия, особенно в условиях теплого влажного климата. Наряду с лабораторными испытаниями на микробиологическую стойкость материалов следует проводить испытания в естественных условиях. Эти испытания позволяют выделять микрофлору и выявлять активные виды микроорганизмов-биодеструкторов, которые могут использоваться при проведении ускоренных испытаний, исследовать сохранность защитного эффекта антисептических препаратов.

Ключевые слова: *биоповреждения, текстильные материалы, биоцидные препараты с наночастицами серебра, грибостойкость, биодеструкторы.*

A.V. Polyakova, A.A. Krivushina, J.S. Goryashnik, T.V. Yakovenko

MICROBIOLOGICAL RESISTANCE TESTS UNDER CONDITIONS OF WARM AND DAMP CLIMATE

Biodeterioration involve practically all materials and products especially under conditions of warm and damp climate. In addition to microbiological resistance tests in laboratory there are microbiological resistance tests under natural conditions. These tests make it possible to isolate microorganisms and reveal active strains of microorganisms-biodestructors that they can be used for microbiological resistance tests in laboratory and for study of antiseptic and biocide protective properties.

Key words: *biodeterioration, textile materials, biocides with silver nanoparticles, microbiological resistance, biodestructors.*

В последние годы все чаще встает вопрос о проблеме биоповреждений – влиянии микроорганизмов на различные материалы. Особенно часто биологическому повреждению подвергаются материалы и изделия в условиях теплого и влажного

климата. Жизнедеятельность микроорганизмов, среди которых грибы, бактерии и актиномицеты, ускоряет процессы коррозии и старения металлов, приводит к потере чувствительности радиоэлектронных устройств, снижает светопропускание и отражение оптических приборов, изменяет электрические параметры электронных и электрических устройств, снижает в 2–5 раз срок службы изоляционных материалов и др. Под влиянием микроорганизмов изменяют свои свойства горюче-смазочные материалы, нарушаются режимы работы топливных систем и т. п. [1–6].

На рост и развитие микроорганизмов влияет целый ряд факторов, среди которых наиболее значимыми являются температура и влажность [7–11]. Оптимальная температура для развития большинства плесневых грибов и бактерий 25–30°C. Кроме того, чем больше в окружающей среде процентное содержание влажности, тем активнее растут микроорганизмы. Именно поэтому изделия, эксплуатирующиеся в климатических зонах с повышенной температурой и влажностью (субтропики и тропики), в значительной степени подвержены влиянию микроорганизмов.

В ВИАМ уже более 50 лет проводятся микробиологические исследования в области биоповреждений различных материалов [12–15]. При разработке материалов проводят ускоренные испытания на стойкость к воздействию плесневых грибов и нефтепродуктов. Однако при проведении лабораторных исследований невозможно учесть влияние всех климатических факторов, воздействующих на материалы при эксплуатации. Поэтому, наряду с ускоренными испытаниями в лабораторных условиях, необходимо проводить исследования в природных условиях, где происходит естественное заражение материалов микроорганизмами. Эти испытания позволяют выделять микрофлору и выявлять активные виды микроорганизмов-биодеструкторов, которые могут использоваться при проведении ускоренных испытаний, исследовать сохранность защитного эффекта антисептических препаратов.

В России наиболее благоприятной зоной для проведения этих испытаний является юг Черноморского побережья с теплым влажным (субтропическим) климатом.

В районе г. Сочи в юго-восточной части тисосамшитовой рощи была организована микологическая площадка (ИПТС РАН) для проведения испытаний в соответствии с ГОСТ 9.053–91 «ЕСЗКС. Материалы неметаллические и изделия с их применением. Метод испытаний на микробиологическую стойкость в природных условиях в атмосфере».

Микологическая площадка (участок 0,5 га) располагается в низменной, хорошо увлажненной местности, защищенной от действия ветра и затененной двухъярусной

растительностью. Растительность площадки типично лесная, площадей, не покрытых лесом, нет. Почвенный покров представлен перегнойно-карбонатными выщелоченными среднемоющими почвами. Таким образом, на микологической площадке созданы условия для активного развития почвенной микрофлоры.

На территории данной микологической площадки были взяты пробы микроорганизмов. Пробы брали на трех уровнях по высоте: на земле, 0,5 и 1 м над землей. Для выделения микроорганизмов использовали чашки Петри со средой сусло-агар.

На видовой состав выделяемых микроорганизмов влияет множество факторов, в том числе условия выделения. Непосредственное отношение имеют способы приготовления питательных сред для изоляции и последующей идентификации грибов.

По своему составу питательные среды разделяются на естественные и искусственные. Естественные среды имеют неопределенный химический состав, основными компонентами таких сред являются продукты растительного или животного происхождения. Искусственные среды характеризуются постоянным химическим составом, для их приготовления используются различные минеральные соли с тем или иным источником углерода. Для культивирования почвенных грибов применяются питательные среды плотной и жидкой консистенции.

В экспериментах были использованы питательные среды на основе суслы с добавлением агар-агара для придания плотной консистенции. Известно, что универсальной питательной среды для культивирования не существует [16]. Многочисленные питательные среды обладают определенными селективными свойствами по отношению к конкретным грибным организмам или их группам. В связи с этим использовалась среда, которую наиболее широко применяют для выделения и культивирования почвенных грибов.

Сбор проб осуществляли следующим образом. Чашки Петри со средой сусло-агар располагали на всех трех уровнях (по 15 штук на каждом уровне) и открывали на 20–30 мин. После недельного выдерживания в термостате при температуре +28°C чашки Петри просматривали, появившиеся колонии микроорганизмов пересеивали на новые чашки Петри со свежей средой Чапека. Пересев производили в стерильном помещении с помощью лабораторной иглы. Чашки Петри с пересеянными культурами снова помещали в термостат с температурой +28°C. После 10–12 сут культуры микроорганизмов достигали необходимых для определения размеров. Определенные

культуры микроорганизмов пересевали на «косяки» с агаризованным сушлом и помещали на хранение в холодильник.

В итоге из образцов выделено 18 видов мицелиальных грибов, относящихся к 10 родам, а также бактерии, актиномицеты и гриб, относящийся к классу *Basidiomycetes* (базидиомицет).

Список видов и родов микроорганизмов:

- *Alternaria sp.*;
- *Aspergillus niger*;
- *Aspergillus flavus*;
- *Broomella acuta*;
- *Cladosporium sp.*;
- *Cochliobolus lunatus*;
- *Fusarium sp.*;
- *Mucor sp.*;
- *Mycelia sterilia*;
- *Penicillium albidum*;
- *Penicillium canescens*;
- *Penicillium jantinelium*;
- *Penicillium islandicum*;
- *Penicillium rugulosum*;
- *Penicillium solitum*;
- *Penicillium sp.*;
- *Penicillium tardum*;
- *Trichoderma sp.*;
- актиномицет;
- базидиомицет;
- бактерии.

Во всех пробах, взятых в разное время года, встречались виды родов *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Mycelia sterilia*.

Анализ проб показал, что доминирование конкретных видов микроорганизмов меняется в зависимости от времени года, что естественно для любой биологической системы. В осенний период было выделено наибольшее количество штаммов микроорганизмов.

Исследования показали, что на площадке в районе г. Сочи довольно велико видовое разнообразие микроорганизмов, в том числе мицелиальных грибов, бактерий и актиномицетов. Кроме того, доминирующие виды грибов (*Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, виды рода *Penicillium*) относятся к списку культур, рекомендуемых ГОСТ 9.049–91 «ЕСЗКС. Материалы полимерные и их компоненты. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов» для проведения испытаний на грибостойкость.

Колонии вида *Aspergillus niger* вначале белые или светло-желтые, однако с момента образования спороношений становятся темно-бурыми, иногда почти черными. Известно, что гриб *Aspergillus niger* выделяют с фенопластов, с различных целлюлозных материалов, кожи, кирзы, красок, резин, алюминиевых сплавов, нержавеющей стали, титановых сплавов со следами коррозии, смазок, топлив. Вид *Aspergillus flavus* имеет бархатистые, пушистые или хлопьевидно опушенные колонии желто-зеленого цвета. Этот вид часто выделяют с пластмасс, входящих в состав различных изделий. Кроме того, он встречается на алюминии со следами коррозии. Виды родов *Trichoderma* и *Penicillium* также часто выделяют с материалов и изделий со следами биологического поражения [17].

Выделенные штаммы микроорганизмов дополнили набор микроорганизмов, имеющих в ВИАМ, и будут использованы при проведении испытаний в лабораторных условиях.

Как отмечено ранее, на активность и численность микроорганизмов влияет множество внешних факторов, таких как среднесуточная температура данного района, влажность и многие другие.

Что касается температурно-влажностного режима окрестностей г. Сочи, то относительная влажность воздуха довольно высока в течение всего года: ~80%. В зимние месяцы она немного снижается, но все же достаточно высокая, и поэтому фактор влажности не лимитирует развитие микроорганизмов в течение всего года. Температура воздуха начинает заметно снижаться в декабре месяце. Наиболее холодные месяцы: декабрь–март. Средняя температура этих месяцев составляет 7–10°C.

Естественно предположить, что микробиологические процессы в эти месяцы должны затухать. Предположение строится на основе данных, полученных ранее при проведении испытаний на микробиологическую стойкость материалов в районе г. Батуми (табл. 1).

**Интенсивность роста грибов в течение года на микологической площадке
в районе г. Батуми**

Месяцы	Интенсивность роста грибов, балл
Ноябрь	1
Декабрь	1
Январь	1
Февраль	0
Март	0
Апрель	2
Май	3
Июнь	3
Июль	3
Август	3
Сентябрь	3
Октябрь	3

Видно, что микробиологические процессы в районе г. Батуми в декабре–марте затухают, следовательно, процесс поражения материалов микроорганизмами также затухает, и в эти месяцы можно не проводить периодические осмотры материалов и изделий на микологической площадке. В связи с этим испытания на микробиологическую стойкость следует начинать в осенний период. Срок испытаний должен включать два летних периода.

Проведено сравнение видового состава микроорганизмов, выделенных на микологических площадках в районе г. Сочи и г. Батуми.

Ранее в окрестностях г. Батуми наиболее часто выделяли виды грибов, относящихся к родам *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor* и *Penicillium*. Из образцов, взятых на микологической площадке в окрестностях г. Сочи, выделены виды грибов, относящиеся ко всем перечисленным выше родам. Большинство этих видов преобладали и в количественном отношении. Таким образом, доминирующие роды грибов в окрестностях г. Сочи совпадают с таковыми в районе г. Батуми.

Анализ видового состава микроорганизмов на микологической площадке в районе г. Сочи свидетельствует о пригодности проведения испытаний на микробиологическую стойкость материалов и изделий согласно ГОСТ 9.053–91. Однако необходим постоянный контроль за встречаемостью и численностью мицелиальных грибов.

Для оценки соответствия микологической площадки ГОСТ 9.053–91 проводили контрольные испытания на образцах различных систем ЛКП, на хлопчатобумажных и лавсановых тканях без пропитки антисептиками. Осмотр образцов после экспозиции в течение 6 мес показал, что в условиях микологической площадки материалы обрастают микроорганизмами. Балльная оценка степени обрастания материалов микроорганизмами равна 3–4.

Исследован фунгицидный эффект биоцидных препаратов с наночастицами серебра, предназначенных для защиты неметаллических материалов [18–20]. Использованы тест-культуры, рекомендованные ГОСТ 9.049–91 и выделенные в природных условиях теплого влажного климата (район г. Сочи). Испытания проводились по методам №2 и №3 (ГОСТ 9.049–91) – табл. 2.

Таблица 2

Исследование фунгицидного эффекта биоцидных препаратов

Биоцидные препараты с наночастицами серебра (ПНС)	Содержание наночастиц серебра на материале, % (по массе)	Содержание компонентов в 100 мл рабочего раствора ПНС, мл	Грибостойкость, балл, материалов, выдержанных в питательной среде			
			по методу №2		по методу №3	
			суспензия 1	суспензия 2	суспензия 1	суспензия 2
Контрольный образец	–	–	4	4	5	5
1	0,4	100	1	2	2	4
2	0,07+КБК*	15	1	2	2	3
3	0,25	100	1	2	2	4
4	0,25+БК*	100	1–2	1	3	4

* КБК – компонент биоцидной композиции; БК – биоцидная композиция.

Видно, что исследуемые биоцидные препараты угнетают микромицеты. По чувствительности к препаратам наиболее уязвимыми оказались микромицеты, которые рекомендованы ГОСТ 9.049–91. Выявление в природных условиях теплого влажного климата активных видов микроорганизмов-биодеструкторов позволяет использовать их при оценке сохранности защитных свойств биоцидных препаратов.

Таким образом, создана микологическая площадка, которая полностью соответствует требованиям ГОСТ 9.053–91 по всем необходимым показателям: почвенно-растительному покрову, климатическим характеристикам, геоморфологическим условиям, численности и видовому составу микрофлоры. Данная

микологическая площадка является единственной на территории РФ, которая позволяет проводить натурные испытания материалов и элементов конструкций в условиях субтропического климата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каблов Е.Н. Стратегические направления развития материалов и технологий их переработки на период до 2030 года //Авиационные материалы и технологии. 2012. №S. С. 7–17.
2. Гращенков Д.В., Чурсова Л.В. Стратегия развития композиционных и функциональных материалов //Авиационные материалы и технологии. 2012. №S. С. 231–242.
3. Кириллов В.Н., Старцев О.В., Ефимов В.А. Климатическая стойкость и повреждаемость полимерных композиционных материалов, проблемы и пути решения //Авиационные материалы и технологии. 2012. №S. С. 412–423.
4. Орлов М.Р. Стратегические направления развития Испытательного центра ФГУП «ВИАМ» //Авиационные материалы и технологии. 2012. №S. С. 387–393.
5. Каблов Е.Н., Полякова А.В., Васильева А.А., Горяшник Ю.С., Кириллов В.Н. Микробиологические испытания авиационных материалов //Авиационная промышленность. 2011. №1. С. 35–40.
6. Бочарова Б.В., Герасименко А.А., Коровина И.А. Биостойкость материалов. Стойкость к воздействию грибов. М.: Наука. 1986. 210 с.
7. Полякова А.В., Васильева А.А., Линник М.А., Горяшник Ю.С. Микробиологические повреждения авиационных материалов /В сб. докладов VIII научной конференции по гидроавиации «Гидроавиасалон-2010». Ч. II. М: ЦАГИ. 2010. С. 215–216.
8. Кривушина А.А., Горяшник Ю.С., Гунина Т.В. Методы исследования микробиологической стойкости авиационных материалов /В сб. докл. Международной науч.-технич. конф. «Новые материалы и технологии глубокой переработки сырья – основа инновационного развития экономики России». Геленджик. 2012. (электронная версия).
9. Atlas R.M. Effects of Temperature and Crude Oil Composition on Petroleum Biodegradation //Applied microbiology. 1975. V. 30. №3. P. 396–403.
10. Андреюк Е.И., Билай В.И., Коваль Э.З., Козлова И.А. Микробная коррозия и ее возбудители. Киев: Наукова думка. 1980. 288 с.
11. Африкян Э.Г. Некоторые актуальные вопросы микробных биоповреждений и защита материалов, изделий и сооружений. М. 1989. С. 19–25.
12. Полякова А.В., Васильева А.А., Горяшник Ю.С., Кириллов В.Н. Испытания на микробиологическую стойкость в условиях теплого влажного климата /В сб.

- материалов конф. «Социально-экономическое и инновационное развитие Юга России». Сочи: РИО СНИЦ РАН. 2009. С. 172–176.
13. Копылов Г.А., Ковалев В.Д., Баландина Н.В. Биоповреждения в авиационной технике //Ремонт, восстановление, модернизация. 2010. №1. С. 42–47.
 14. Полякова А.В., Васильева А.А., Горяшник Ю.С., Линник М.А. Биозащита авиационных материалов //Российский химический журнал. 2010. Т. LIV. С. 117–120.
 15. Семенов С.А., Гумаргалиева К.З., Заиков Г.Е. Биоповреждения материалов и изделий //Энциклопедия инженера-химика. 2007. №3. С. 22–26.
 16. Билай В.И., Коваль Э.З. Рост грибов на углеводородах нефти. Киев: Наукова думка. 1980. 340 с.
 17. Лугаускас А.Ю., Микульскене А.И., Шляужене Д.Ю. Каталог микромицетов-биодеструкторов полимерных материалов. М.: Наука. 1987. 338 с.
 18. Konwar Uday, Korak Niranjana, Mandal Manabendra. Vegetable oil based highly branched polyester/clay silver nanocomposites as antimicrobial surface coating materials //International Journal. 2010. V. 68. №4. P. 265–273.
 19. Гончарова И.А. Оценка фунгитоксичности материалов при выборе средств защиты от плесневого поражения. Микология сегодня. Т. 2. Национальная академия микологии. 2011. 225 с.
 20. Гунина Т.В., Полякова А.В. Исследование влияния наночастиц серебра на микромицеты-биодеструкторы /В сб. материалов 3-го Съезда микологов России «Современная микология в России». Т. 3. М.: Национальная академия микологии. 2012. 218 с.