

**ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНО-ВЛАЖНОСТНЫХ УСЛОВИЙ
НА АДГЕЗИОННОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СПОР ГРИБА
ASPERGILLUS NIGER С ЛАКОТКАНЬЮ**

© 2021 г. И. Г. Калинина^{1*}, В. Б. Иванов¹, С. А. Семенов¹, В. В. Казарин¹, О. А. Жданова¹

¹Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова
Российской академии наук, Москва, Россия

*E-mail: i_kalinina1950@mail.ru

Поступила в редакцию 29.06.2020;
после доработки 01.10.2020;
принята в печать 20.10.2020

Показано, что параметр процесса адгезии — максимальное число адгезии спор грибов к полимерным материалам — позволяет оценить способность гриба *Aspergillus niger* и лакоткани к адгезионному взаимодействию в различных температурно-влажностных условиях. Величина этого параметра определяется преимущественно влажностью и практически не зависит от температуры окружающей среды. Получена аналитическая зависимость максимального числа адгезии от влажности воздуха. Результаты исследований могут быть использованы при разработке методов оценки и прогнозирования заражения материалов микроорганизмами-деструкторами в различных климатических условиях.

Ключевые слова: адгезия, микроскопические грибы, полимерные материалы.

DOI: 10.31857/S0207401X21060054

ВВЕДЕНИЕ

В условиях эксплуатации нередко имеет место негативное влияние плесневых грибов на лакотканевую изоляцию электропроводов электрической сети изделий техники (далее — лакоткань). Споры грибов могут быть занесены на лакоткань различными путями, например воздушными потоками, атмосферно-почвенными загрязнениями и др. Некоторые виды грибов, чаще всего *Aspergillus niger* (*A. niger*), способны развиваться на изоляционном материале, вызывая изменение его свойств, а в ряде случаев — и полную потерю работоспособности и разрушение [1]. Начальным необходимым условием протекания процесса микробиологического повреждения является адгезионное взаимодействие спор грибов с материалом. Оно обуславливает такое состояние пары “спора гриба — поверхность”, при котором требуется сила для ее разделения.

В работах [2–4] нами исследована адгезия спор *A. niger* к лакоткани и другим полимерным материалам. Процесс охарактеризован числом адгезии (γ , %), представляющим собой отношение количества спор, оставшихся на образце после воздействия определенной силы отрыва, к числу спор, находившихся на нем первоначально. Формирование адгезионного взаимодействия происходит в течение определенного времени (до 36 ч), а за-

висимость величины γ от времени близка к экспоненциальной. Параметрами процесса являются предельная (максимальная) величина числа адгезии γ_{∞} (далее — γ_{max}), достигаемая в эксперименте, и константа скорости k изменения γ .

Экспериментально показано, что параметры γ_{max} и k чувствительны к природе полимерных материалов и могут быть использованы для оценки их стойкости к заражению грибами (биозаражению). Чем больше величины этих параметров, тем быстрее протекает процесс закрепления спор и выше сила их адгезии к поверхности. При этом менее вероятной становится возможность удаления микроорганизмов с поверхности материала в результате различных внешних воздействий. Параметры γ_{max} и k изменяются симбатно, что позволяет при проведении испытаний использовать только один из них.

Результаты исследований [2–4] позволили предположить, что параметры адгезии чувствительны и к условиям протекания процесса и, следовательно, могут использоваться для прогнозирования биозаражения изоляции электропроводов при эксплуатации в различных климатических условиях. Принято считать, что наиболее важными условиями, определяющими эффективность взаимодействия микроорганизмов с материалами, являются

температура и влажность, и именно их значения регламентируются в стандартах на испытания [5, 6]. Поэтому основная цель настоящей работы – установление закономерностей влияния данных характеристик на параметры адгезионного взаимодействия спор *A. niger* и лакоткани обусловлен предварительными данными, свидетельствующими о высокой адгезии, а также важной практической значимостью корректной оценки устойчивости этого материала к биоповреждению.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследовали лакоткань, представляющую собой хлопчатобумажную нитяную основу, пропитанную этилцеллюлозным лаком ЭЦ-959 (ТУ 6-10-691-74). Этот материал способен поддерживать интенсивный рост плесневых грибов [4]. Образцы размером 50 × 20 мм для испытаний вырубали специальным штампом-ножом из предварительно удаленной с провода БПВЛ (ТУ 16.505.911-76) лакотканевой оплетки и наклеивали на подложки из алюминиевого сплава с целью придания им жесткости.

В качестве тест-культуры использовали штамм гриба *A. niger* ВКМ F-2039, являющийся активным биодеструктором полимерных материалов, в том числе лакоткани [1–6]. Все работы с микроскопическим грибом (пересев, выращивание, хранение культуры, приготовление суспензии спор, определение ее концентрации, заражение, инкубирование образцов и др.) проводили, используя стандартизованные приемы, методы и режимы [5, 6]. Гриб выращивали на агаризованной среде Чапека–Докса при температуре $(29 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 12 сут. Споры выросшего *A. niger* с помощью бактериологической петли переносили в колбу с дистиллированной водой. Плотность их суспензии составляла $\sim 10^6$ клеток в 1 мл воды. Ее определяли микроскопически с помощью счетной камеры Горьева.

Суспензию капельным методом наносили на предварительно очищенные от внешних загрязнений образцы. Количество спор гриба на их поверхности (N_0) составляло $(1 \div 2) \cdot 10^5$. После заражения образцы выдерживали до испарения воды с поверхности в течение 20–40 мин и помещали в камеру тепла и влаги КТВ-0.15 (150 л), где поддерживали режимы с различными сочетаниями температуры и влажности. Эксперименты проводили при температурах 15, 20, 28 $^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха 65, 80, 98%. При выборе температурно-влажностных условий учитывали, что температура $(29 \pm 2)^\circ\text{C}$ и относительная влажность более 95% являются наиболее благоприятными для развития *A. niger* [5–8]. Предварительные исследования показали, что дальнейшее повышение температуры приводит к снижению интенсивно-

сти роста микроорганизма. При температуре 15 $^\circ\text{C}$ и влажности менее 75% признаки роста гриба на лакоткани не обнаруживаются.

Определение величины максимально достигаемого в эксперименте числа адгезии γ_{max} спор гриба к лакоткани проводили методом центрифугирования, подробно изложенным в работе [4]. Для этого часть образцов извлекали из камеры, размещали в центрифужных стаканах и центрифугировали в воздушной среде с использованием центрифуги марки К-24 JANEZKI. Режимы центрифугирования экспериментально обоснованы в [4]. Скорость вращения центрифуги $n = 7000$ об/мин, время вращения – 15 мин. Возникающая при вращении центробежная сила, обеспечивающая отрыв спор, равна (но противоположна по знаку) силе их адгезионного взаимодействия с материалом. После окончания воздействия силового поля определяли количество отделившихся от материала спор, $N_{отд}$. Для этого образец удаляли из центрифужного стакана и фиксированным объемом дистиллированной воды (4 мл) смывали со дна и стенок стакана отделившиеся от лакоткани споры гриба. В полученной суспензии определяли количество спор путем ее разведений и высевов на твердую питательную среду Чапека–Докса. Затем рассчитывали величину числа адгезии $\gamma = [(N_0 - N_{отд})/N_0] \cdot 100\%$. Последнюю определяли периодически, через каждые 1–3 сут экспонирования образцов. Испытания прекращали, если полученные в трех последовательных отборах значения γ не увеличивались, и при отсутствии на образцах внешних признаков роста грибов. Это значение принимали равным γ_{max} .

В экспериментах испытывали семь образцов для одного определения величины γ . Обработку экспериментальных данных проводили по алгоритмам программы STATISTICA 6.1. Разброс результатов не превышал 10%. Его характеризовали отношением среднего квадратичного отклонения к математическому ожиданию.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены полученные методом наименьших квадратов линейные зависимости числа адгезии γ_{max} спор *A. niger* к лакоткани от температуры при различных постоянных значениях относительной влажности воздуха, ϕ . Средние значения γ_{max} приведены с доверительным интервалом, определенным при уровне значимости $\alpha = 0.05$.

Видно, что в исследованном температурно-влажностном интервале показатель γ_{max} чувствителен практически только к одному из варьируемых факторов внешней среды. Его величина значительно возрастает при увеличении влажности. Максимальное значение γ_{max} наблюдается при

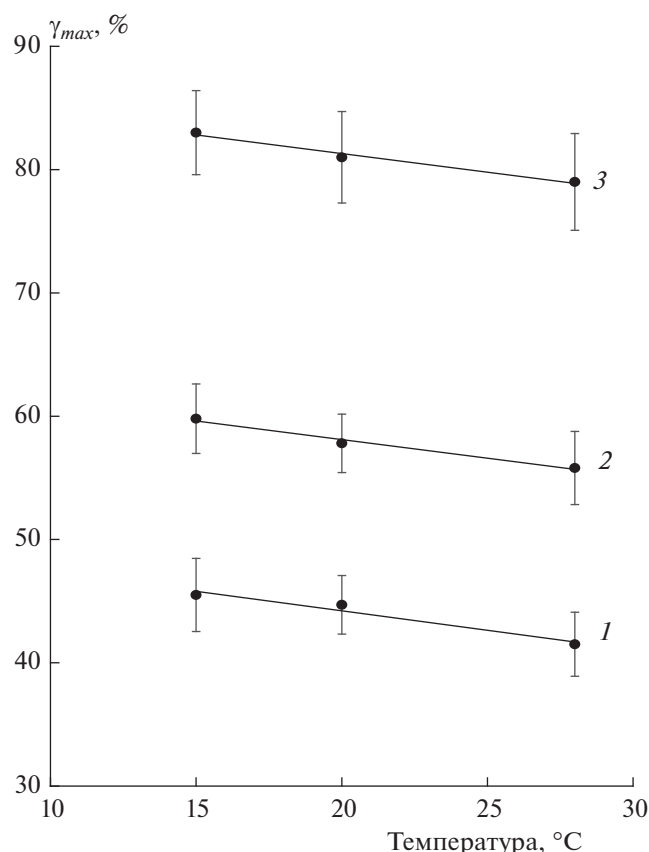


Рис. 1. Зависимости числа адгезии γ_{max} спор гриба *A. niger* к лактозани от температуры при различных постоянных значениях относительной влажности воздуха: 1 – 65%, 2 – 80%, 3 – 98%. Средние значения γ_{max} показаны с доверительным интервалом, определенным при уровне значимости $\alpha = 0.05$.

наиболее благоприятной для развития грибов влажности воздуха, равной 98%.

Напротив, при повышении температуры от 15°C до наиболее благоприятной для роста грибов температуры в 28°C (при постоянной влажности воздуха) имеет место небольшое снижение величины γ_{max} . Однако оно не превышает 5–7% и не выходит за пределы ошибки определения адгезионного показателя. Таким образом, влияние температурных условий адгезионного контакта (при постоянной относительной влажности) на показатель γ_{max} незначительно. Это позволяет рассчитать среднее значение γ_{max} для данной влажности, используя его средние значения при всех исследованных температурах. Анализ полученных таким образом максимальных чисел адгезии γ_{max} для $0.65 < \varphi \leq 0.98$ показал, что их зависимость от влажности (рис. 2) с достаточно высокой точностью (коэффициент детерминации $R^2 > 0.98$) аппроксимируется линейным уравнением вида

$$(\gamma_{max})_{\varphi} = (\gamma_{max})_{\varphi_1} \pm \alpha(\varphi_1 - \varphi),$$

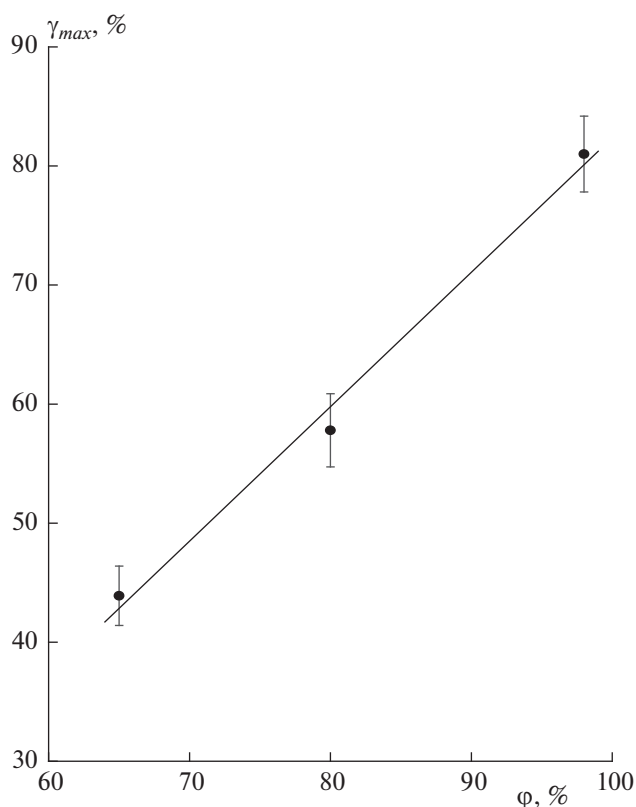


Рис. 2. Зависимость числа адгезии γ_{max} спор гриба *A. niger* к лактозани от относительной влажности воздуха (φ). Точки – средние значения при всех изученных температурах.

где $(\gamma_{max})_{\varphi}$ – значение γ_{max} при относительной влажности воздуха φ ; $(\gamma_{max})_{\varphi_1}$ – значения γ_{max} при относительной влажности φ_1 ; α – влажностной коэффициент, характеризующий степень влияния влажности на параметр γ_{max} . При $\varphi < \varphi_1$ правая часть уравнения представляет собой сумму, а при $\varphi > \varphi_1$ – разность соответствующих величин. Значение влажностного коэффициента α составило 1.130.

Таким образом, можно заключить, что определяющее воздействие на процесс адгезии спор грибов к лактозани оказывает влажность окружающей среды. Уравнение позволяет проводить сравнительные и прогностические оценки адгезионного взаимодействия гриба с лактозанию при любых сочетаниях температуры и влажности воздуха в исследованном диапазоне их изменения. Необходимо отметить, однако, что эмпирический характер выявленных зависимостей ограничивает возможности их применения только для исследованной пары “лактозань – гриб *A. niger*”.

Ранее объектами наших исследований были полимерные материалы, различающиеся по химическому строению, структуре и составу входящих в них компонентов. При этом для всех иссле-

дованных адгезионных пар имеет место общность закономерностей формирования адгезионного взаимодействия [3, 4, 9]. Поэтому, по-видимому, рассмотренный подход к проведению оценок адгезионного взаимодействия лакоткани с грибом *A. niger* при различных температурно-влажностных условиях может быть использован для широкого круга полимерных материалов и микроорганизмов-биодеструкторов.

Единые закономерности адгезии различных материалов и микроорганизмов свидетельствуют также о том, что силы, обуславливающие это явление, имеют общую природу. Представленные в статье экспериментальные результаты позволяют предложить гипотезу о природе взаимодействия спор с материалом [10–12].

Известно [8, 13–16], что адгезия частиц небологической природы, а также бактериальных клеток может обуславливаться взаимодействиями различных типов. Наиболее важными из них являются химические, электростатические и капиллярные взаимодействия. Характерным признаком многих химических и биохимических процессов служит увеличение их скорости при повышении температуры. Однако установлено (рис. 1), что изменение температуры не оказывает заметного влияния на величину показателя γ_{max} при незначительной тенденции к его возрастанию с понижением температуры в интервале от 28 до 15°C. Такой характер температурной зависимости дает основания предполагать, что химические процессы не оказывают определяющего влияния на адгезионное взаимодействие спор грибов с лакотканью.

В качестве иного механизма адсорбции можно рассматривать результаты работы [14], которые свидетельствуют о заметной роли в адгезионном процессе веществ, продуцируемых микроорганизмами при их контакте с материалом. Однако этот механизм, по-видимому, реализуется только в активной фазе жизнедеятельности, а не в состоянии покоя, в котором находятся споры грибов.

В условиях эксперимента при высокой относительной влажности (более 65%) вероятно присутствие пленки воды между контактирующими поверхностями спор и материала. В этом случае практически исключается возможность заметного влияния на адгезионную связь электростатического взаимодействия, обусловленного донорно-акцепторными процессами при непосредственном контакте между телами. Следовательно, можно полагать, что для используемых нами режимов испытаний электростатическое взаимодействие не оказывает заметного влияния на адгезию спор грибов к поверхности.

Вероятно, наличие воды обеспечивает как увеличение площади контакта за счет снижения микрошероховатости, так и “активацию” поверхностей спор и материала за счет увеличения моле-

кулярной подвижности. Кроме того, в условиях высокой относительной влажности существенное влияние на адгезию могут оказывать и капиллярные эффекты, обусловленные конденсацией жидкости в зазоре между поверхностями.

В монографии [13] приведены теоретическое обоснование и экспериментальное подтверждение зависимости адгезионного взаимодействия от размеров (эффективного радиуса) мелкодисперсных частиц. Учитывая это и другие имеющиеся данные, в целях дальнейшего изучения природы адгезионного взаимодействия целесообразно провести экспериментальные исследования адгезии к материалу спор грибов различных видов, различающихся по геометрическим размерам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что использование в качестве параметра максимально достигаемого в эксперименте числа адгезии γ_{max} спор гриба *A. niger* к лакоткани позволяет оценивать способность пары “материал – микроорганизм” к адгезионному взаимодействию в различных температурно-влажностных условиях. При благоприятной для развития грибов температуре (свыше 15°C) и влажности (более 65%) величина γ_{max} определяется преимущественно влажностью и практически не чувствительна к температуре окружающей среды. Получена аналитическая зависимость, связывающая этот адгезионный параметр с величиной влажности воздуха. Результаты исследований могут быть использованы для разработки методов оценки и прогнозирования стойкости материалов к заражению микроорганизмами-биодеструкторами в различных климатических условиях.

Предложена гипотеза о физико-химической природе процессов, обуславливающих адгезию спор гриба *A. niger* к лакоткани в исследованных температурно-влажностных условиях. По-видимому, это межмолекулярное взаимодействие между макромолекулами материала и спор с участием в качестве активатора прослойки воды между материалом и спорами, роль которой может усиливаться вследствие капиллярной конденсации жидкости в зазоре между ними.

В целях дальнейшего изучения природы адгезионных сил целесообразно провести экспериментальные исследования адгезии к материалу спор грибов различных видов, различающихся геометрическими характеристиками, способными влиять на соотношение и характер сил адгезии.

Работа выполнена в рамках финансирования госзадания ФИЦ ХФ им. Н.Н. Семёнова РАН № ГЗ-0082-2019-0008 (АААА-А20-120030590042-8), а также в соответствии с госзаданием № 0082-18-006

(номер государственной регистрации АААА-А18-118020890097-1).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Семенов С.А., Гумаргалиева К.З., Заиков Г.Е. // Вестн. МИТХТ. 2008. Т. 3. № 2. С. 3.
2. Gumargalieva K.Z., Semenov S.A., Kalinina I.G. et al. // Rubber, Fibre, Plastic, Intern. 2011. V. 6. № 2. P. 114.
3. Калинина И.Г., Семенов С.А., Гумаргалиева К.З., Казарин В.В. // Хим. физика. 2017. Т. 36. № 3. С. 54.
4. Калинина И.Г., Семенов С.А., Гумаргалиева К.З., Казарин В.В. // Хим. физика. 2018. Т. 37. № 2. С. 78.
5. ГОСТ 9.048-89. ЕСЗКС. Изделия технические. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов. М.: Изд-во стандартов, 1994.
6. ГОСТ 9.049-91. ЕСЗКС. Материалы полимерные и их компоненты. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов. М.: Изд-во стандартов, 1994.
7. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир, 1987.
8. Calleja G.B. // Microbial adhesion and aggregation / Ed. Marshall K.C. Berlin, 1984. P. 303.
9. Калинина И.Г., Гумаргалиева К.З., Семенов С.А., Казарин В.В., Жданова О.А. // Хим. физика. 2019. Т. 38. № 3. С. 70.
10. Bert-Ewald Priegnitz, Andreas Wargenau, Ulrike Brandt et al. // Fungal Genetics and Biology. 2012. V. 49. P. 30.
11. Beng Joo Reginald Thio, J. Carson Meredith // Colloids Surf., B. 2008. V. 65. P. 308.
12. Kevin Kendall. Molecular adhesion and its Applications. N.Y., Boston, Dordrecht, London, Moscow: Kluwer Acad. Publ., 2004.
13. Зимон А.Д. Адгезия пыли и порошков. М.: Химия, 1967.
14. Звягинцева И.С., Звягинцев Д.Г. // Биол. наука. 1998. № 5. С. 20.
15. Jianyu Zhu, Qian Li, Weifeng Jiao et al. // Colloids Surf., B. 2012. V. 94. P. 95.
16. Hyunjung N. Kim, Sharon L. Walker // Ibid. 2009. V. 71. P. 160.