

В современных условиях экологически нагруженной внешней среды и быстрой адаптации различных видов микроорганизмов к изменяющимся условиям среды, с одной стороны, и накопления различных отходов материалов синтетического происхождения, с другой стороны, необходимы исследования в области разработки как быстроразлагающихся материалов в случае необходимости их утилизации так и стойких материалов в случае защиты от биоразрушения. Современное состояние проблемы подтверждает необходимость изучения природы адгезионного взаимодействия на границе раздела: материал – стенка клетки микроорганизма, с попыткой количественной оценки этого процесса [1 - 5]. Процессу биодеструкции – биоповреждению предшествуют две стадии: адгезия или прикрепление микроорганизмов к поверхности материала с последующим ростом биомассы микроорганизма в результате утилизации субстрата – подложки. Эти две стадии определяют последующие процессы разрушения материала. Адгезированные клетки микроорганизмов действуют как агрессивные биоагенты в результате выделения экзоферментов или других низкомолекулярных веществ, организующих так называемую биопленку. Поэтому количественные параметры адгезии, в свою очередь, являются определяющими для скоростей биообрастания и биоразрушения материалов [6 - 9], в том числе и металлических конструкций. Биоповреждения металлов и металлоконструкций принято называть биокоррозией или микробиологической коррозией металлов. Основные стадии микробиологической коррозии - это транспорт микроорганизмов из воздушной, водной среды или из почвы на поверхность металло - конструкционных изделий с последующей адгезией (прилипанием). Необратимость адгезии микроорганизмов на поверхность определяется прочностью адгезионного взаимодействия спор микроорганизмов с поверхностью металла, характером загрязнений и условиями эксплуатации, организацией биопленки на границе раздела, определяющей сродство адгезирующих поверхностей подложки, клеточной стенки и раствора веществ – нутриентов [10]. Реагенты и продукты электрохимических реакций, встречающиеся на металлической поверхности взаимодействуют с реагентами и продуктами микробиальных, метаболических процессов, встречающихся в биопленках комплексным путем, некоторые из этих взаимодействий ускоряют коррозию, а некоторые могут ингибировать ее [11]. Не существует универсального механизма микробиально вызванной коррозии, позволяющего разработать математические модели процессов коррозии, учитывающие значимость физико - химических факторов [12-15]. Целью нашей работы поэтому явилась количественная оценка прочности адгезионной связи (сродства) поверхность металла – споры микроорганизмов, природы связи. Методика эксперимента Микроскопические грибы выращивали на агаризованной среде Чапека – Докса при температуре 30°C в течение 14 суток, конидии отбирали смывом дистиллированной водой, использовали суспензию в воде с титром 10⁶ –

107 клеток в 1мл. Перечень и характеристика использованных в эксперименте металлов, определяющая их способность к окислению приведены в таблице 1. Образцы листовых металлов размером 65 x10 мм подвергали холодной пластической деформации в цилиндрических валках на 20 – 30 %. Образцы очищали в течение 30 мин в растворе детергента и столько же в деионизованной воде меняя ее трижды, проводя оба процесса либо при кипячении (способ а), либо при комнатной температуре (способ б), затем промывали ацетоном марки хч и высушивали в эксикаторе. Для алюминия и цинка, которые легко окисляются, обработка по способу (а) дает в сравнении со способом (б) увеличение γ_{∞} (предельного числа адгезии) на 15 %. Для трудно окисляющихся металлов картина обратная, поэтому в основных опытах все металлы очищали способом (б). Таблица 1 - Характеристика металлов

Металл	Марка	Состав, %	Свободная энтальпия образования окислов No, 298 К
Алюминий	А999	99,999	-400,50 (Al ₂ O ₃)
Вольфрам	ОСЧ	99,999	-140,94 (WO ₂)
Медь	МОО	99,999	-37,23 (CuO)
Железо	Армко	ОСЧ	-197,3 (Fe ₂ O ₃)
Молибден	ОСЧ	99,999	-140,8 (MoO ₂)
Никель	ОСЧ	99,999	-57,3 (NiO)
Платина	ОСЧ	-	-
Свинец	ОСЧ	-	-51,94 (PbO, желтый)
Серебро	ОСЧ	-	-7,42 (Ag ₂ O)
Тантал	ТВЧ	-	-
Титан	ВТ 1	00	-225,50 (TiO ₂)
Цинк	ЦВЧ	99,999	-83,24 (ZnO)
Золото	ОСЧ	99,999	-

На очищенный образец наносили 0,1 мл суспензии конидий микроскопических грибов в расчете 105 – 106 клеток на образец. Затем 20 мин высушивали при комнатной температуре с помощью вентилятора и выдерживали в эксикаторе при 22о С и относительной влажности 95 % воздуха в течение различного времени. Адгезию конидий к металлу оценивали методом центрифугального отрыва в водной среде [16, 17]. Для этого образцы пластичных металлов и фольги приклеивали к твердой подложке клеем, чтобы исключить деформацию при центрифугировании. Пластины жестких металлов помещали непосредственно в центрифужный стакан. Образцы металлов с нанесенными и высушенными конидиями выдерживали в эксикаторе при относительной влажности 95 % (от 30 мин до 5 суток), центрифугировали в водной среде, трехкратно повторяя каждый опыт. Центрифуга марки К-24 JANEZKI, частота вращения от 1000 до 18000 об/мин в течение 10 мин. Число конидий, необратимо адгезированных, определяли микроскопическим методом, используя счетную камеру Горяева. При исследовании взвеси спор подсчитывали количество спор или конидий в единице объема жидкости. По числу конидий, оставшихся после центрифугирования, нельзя судить о прочности их прикрепления к поверхности, поэтому более точное представление о прочности связи конидий с поверхностью дает величина «числа адгезии» - γ . «Числом адгезии» называют долю конидий, оставшихся на образце после центрифугирования, выраженную в процентах: $\gamma = (1-N/N_0) * 100, \%$ (1) где N_0 – число конидий, нанесенных на образец, а N – число оторвавшихся конидий. Предельным γ_{∞} считали значение γ , которое не изменяется в данном силовом поле независимо от времени выдерживания

конидий на образце и центрифугирования. Время достижения стационарной скорости вращения ротором центрифуги составляло три минуты, длительность опыта - 10 мин. Из интегральных кривых распределения конидий по силам адгезии, характеризующих зависимость доли оторвавшихся частиц от силы отрыва, определяли силу, соответствующую отрыву 50 % конидий от общего числа всех адгезированных на поверхности металла конидий, которую рассчитывали по формуле: $F_{50} = \pi^3 / 675 \cdot R (\rho_{кл} - \rho_{ср}) \cdot \omega^2 \cdot r^3$, дин / клетку, (2) где $\rho_{ср}$ – плотность среды (вода), $\rho_{кл}$ – плотность конидий, равная 1,15 г / см³, $R = 4$ см – радиус ротора центрифуги, ω – угловая скорость вращения ротора центрифуги – число оборотов в минуту, r – радиус конидий *Trichoderma viride*, равный $(3 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$ см. Результаты и их обсуждение

Отработку методических вопросов нанесения, высушивания суспензии микробиальных клеток на поверхность металла, оптимального времени и условий центрифугирования, электронно-микроскопическое изучение кинетики адгезии клеток, проводили при изучении адгезии *Paecilomyces varioti* (средний радиус споры - 5,5 мкм) на алюминиевых подложках. На рис.1 приведены кинетические кривые адгезии конидий *Paecilomyces varioti* при различных температурных режимах адгезии, откуда следует, что наиболее благоприятным температурным режимом является температура 22о С при влажности 95%. Из микроскопических наблюдений обнаружили, что споры *Paecilomyces varioti* отрываются при незначительном усилии (угловая скорость вращения центрифуги 1000 об/мин) слипшимися группами вследствие того, что сила сцепления конидий между собой превосходит силу адгезии к подложке. Примеры экспериментальных кривых при изучении адгезии *Trichoderma viride* к некоторым металлическим поверхностям приведены на рис. 2 и 3. При анализе экспериментальных кривых процесса адгезии на рис. 1 и 3, на одинаковую алюминиевую подложку, но разных по размеру и форме микроскопических грибов, видим огромную разницу в количественных параметрах, вызванную существенным влиянием морфологии и размеров спор, неоднородностью поверхности подложки. Из этих результатов следует, что количественно изучать процесс адгезии необходимо с помощью конидий *Trichoderma viride*, которые сильнее прикрепляются к металлической подложке в отличие от конидий *Paecilomyces varioti*, что немаловажно при центрифугальном изучении процесса адгезии. Адгезию конидий *Trichoderma viride* к поверхности металла характеризовали двумя параметрами: γ_{∞} и F_{50} . Кинетические кривые адгезии конидий *Trichoderma viride* к различным металлам представлены на рис.4, количественные параметры адгезии (значения γ_{∞} и F_{50}) приведены в таблице 2.

Рис. 1 - Кинетические кривые адгезии конидий *Paecilomyces varioti* к алюминиевой подложке при относительной влажности воздуха 95% и различных температурах: 1- 6оС, 2- 22оС, 3 – 37оС, угловая скорость вращения центрифуги – 1000 об/мин, время центрифугирования – 15 мин, в воде. Рис. 2 -

Распределение числа адгезии конидий *Trichoderma viride* в зависимости от угловой скорости вращения центрифуги на поверхности металлов: 1-золото, 2 - титан, 3 - кремний при 22оС, относительная влажность воздуха 95 %, время выдержки конидий на поверхности металла – 24 часа Константы скорости формирования адгезионных сил (рис. 4) из – за соизмеримости времени высыхания капли суспензии конидий *Trichoderma viride* на воздухе со временем выхода на плато трудно определить с достаточной точностью. Изученные металлы по адгезионным параметрам можно разделить на две группы: первую характеризуют $F50 \geq 10^{-4}$ дин / кл.; вторую $F50$ от 10^{-5} до 10^{-7} дин /кл.. Большую роль играет предыстория поверхности, например, на никеле, подвергнутом холодной пластической деформации $\gamma_{\infty} = 79 \pm 8 \%$, а $F50 = 2.0 \cdot 10^{-4}$ дин / кл., а на никеле, выдержанном 1 ч при температуре 700о и давлении 10^{-4} мм рт.ст., $\gamma_{\infty} = 50 \pm 2\%$, а $F50 = 8,2 \cdot 10^{-4}$ дин / кл. Рис. 3 - Кинетические кривые адгезии конидий *Trichoderma viride* к алюминиевой подложке при разных угловых скоростях центрифугирования, температура 22о С, относительная влажность воздуха 95 %. Рис. 4 - Кинетические кривые адгезии конидий *Trichoderma viride* к различным металлам, температура 22оС, относительная влажность воздуха 95%, при угловой скорости вращения центрифуги 15000 об/мин: 1 – цинк, 2 – медь, 3 – алюминий, 4 – никель, 5 – титан, 6 – тантал, 7 – молибден

Таблица 2 - Средние значения адгезионных параметров конидий *Trichoderma viride* при $T = 22^{\circ}\text{C}$ и $\omega = 15000$ об / мин. в водной среде к металлам, обработанным в растворителе: а) кипячением, б) при температуре 22 оС

Металлы	а $\gamma_{\infty}, \%$	а $F50, \%$	б $\gamma_{\infty}, \%$	б $F50, \%$
Алюминий	95 ± 5	82 ± 5	$3,0 \cdot 10^{-4}$	
Вольфрам	$0,186 \pm 0,001$	$0,19 \pm 0,001$	10^{-7}	
Золото	25 ± 5	$2,3 \cdot 10^{-5}$		
Медь	85 ± 3	$4,1 \cdot 10^{-4}$	93 ± 7	$5,8 \cdot 10^{-4}$
Молибден	34 ± 5	$7,4 \cdot 10^{-5}$		
Никель	62 ± 5	$1,67 \cdot 10^{-4}$	79 ± 8	$2,0 \cdot 10^{-4}$
Платина	53 ± 5	$2,2 \cdot 10^{-4}$		
Свинец	96 ± 2	$7,00 \cdot 10^{-4}$	100 ± 1	$7,0 \cdot 10^{-4}$
Серебро	78 ± 5	$5,0 \cdot 10^{-4}$		
Тантал	63 ± 8	$2,97 \cdot 10^{-4}$	65 ± 10	$2,5 \cdot 10^{-4}$
Титан	76 ± 5	$1,35 \cdot 10^{-4}$	71 ± 3	$9,0 \cdot 10^{-5}$
Цинк	$100 - 97 \pm 3$	$6,7 \cdot 10^{-4}$		

Минимальная адгезия наблюдается на золоте, вольфраме и молибдене, максимальная – на цинке, свинце и меди. Алюминий и титан занимают промежуточное положение. В целом ряд по уменьшению предельного числа адгезии выглядит следующим образом: $\text{Pb} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Al} > \text{Ni} > \text{Ag} > \text{Ti} > \text{Pt} > \text{Mo} > \text{Au} > \text{W}$; а по уменьшению значений силы 50 % - ого отрыва конидий: $\text{Pb} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Ag} > \text{Al} > \text{Ti} > \text{Pt} > \text{Ni} > \text{Ti} > \text{Mo} > \text{Au} > \text{W}$. Таким образом, к металлам, которые в условиях эксперимента не окисляются и не образуют оксидов, например, золото, конидии *Trichoderma viride* практически не адгезируют. Полученные результаты свидетельствуют о том, что основная характеристика адгезии – сила адгезии увеличивается со временем, достигая равновесного значения и определяется природой поверхности материала и видом микроскопического гриба. Также отмечен экспериментальный факт распределения сил адгезии в зависимости от приложенного напряжения. Этот эффект не был изучен ранее и вероятно обусловлен как неоднородностью

поверхности материала, так и неоднородностью самих конидий по размерам [18]. При изучении адгезии грибных спор на полимерных материалах нами было показано, что адгезионные свойства внешней стенки спор микроскопических грибов зависят от соотношения белково – липидных компонент. При этом кинетические параметры процесса адгезии, рост величины силы адгезии определяются количеством белковой компоненты. В случае металлической поверхности, аналогично полимерной подложке, рост силы адгезии определяется электрохимическим потенциалом или степенью окисляемости металла. Таким образом, процесс адгезии микроскопических грибов к металлам - многофакторный процесс, требующий дальнейших исследований с учетом физико – химических свойств как подложки, так и адгезирующего агента. Для прогнозирования биостойкости полимерных и металлических конструкционных материалов необходимо знание макрокинетических параметров, описывающих адгезию