

© А. В. Руденко¹, Ю. В. Савельев², Э. З. Коваль¹,
Л. И. Ленова¹, Е. М. Волощук¹

¹Институт урологии АМН Украины, Київ

²Институт химии высокомолекулярных сполук НАН Украины, Київ

КОНЦЕПТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ ГРИБОСТОЙКИХ ПОЛИУРЕТАНОВ ЦЕЛЕВОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Виходячи із особливостей структури синтезованих поліуретанів, яка дозволяє включати додаткові групи та гетероатоми, при конструюванні грибостійких варіантів був використаний пасивний засіб захисту шляхом введення в структуру макромолекул іонів металів Zn, Cu, Sn, які були недоступні для мікроміцетів. Синтезовані поліуретани, макромолекула яких вміщує фрагменти ацетилацетонів олова, цинку, міді та свинцю, проявляли контактний фунгіцидний вплив на штами мікроміцетів, які належать до видів, що були виявлені у приміщеннях орбітальної станції. При цьому слід зауважити, що їхня активність проявлялась у пригніченні процесу проростання спор та збереження життєздатності у межах 3—10 діб, після чого спостерігався лізис клітинної оболонки.

В эпоху технического прогресса, сопровождающегося, с одной стороны, созданием новых материалов, с другой — появлением популяций агрессивных микроорганизмов, — все актуальнее становится необходимость контроля этого процесса в новых промышленных эконисах. Теоретически можно было предположить, что материалы, создаваемые путем искусственного синтеза, будут недоступными для известных деструкторов, поскольку подобные соединения в природе не встречаются, и адаптированных к ним микроорганизмов нет. Однако при этом не учитывалось, что несмотря на кажущуюся примитивность организации, микроорганизмы, как и все живые системы, характеризующиеся анизотропной структурой, не изолированы от влияния внешней среды, и между ними происходит многообразный обмен веществ и энергии. У микроорганизмов это проявляется в наличии специфических ферментов, обеспечивающих функционирование и конкурентность даже в экстремальных условиях освоения неростовых субстратов. Недооценка этих способностей микроорганизмов привела к тому, что в последние десятилетия появилось огромное количество промышленных отходов, состоящих преимущественно из синтетических полимеров. Свалки превратились в естественные источники формирования наиболее активных деструкторов, количество спор которых в воздухе катастрофически увеличивается. Это явление настораживает не только специалистов технического профиля, но и медиков, поскольку эти микроорганизмы (бактерии и грибы) являются причинными факторами инфекционно-воспалительных заболеваний человека и животных.

Согласно данным статистики, где учтены все виды биоповреждений, в условиях экологического мониторинга наибольший ущерб причиняют мицелиальные, «плеснеобразующие» грибы, — микромицеты [7]. В настоящее время известно более 500 их видов, которые являются активными деструкторами различных полимеров [9].

Способность многих видов грибов выдерживать экстремальные условия промышленных эконис и осваивать труднодоступные неростовые субстраты, в которых лимитированы источники азота и углерода при предельно низком содержании активной воды, не позволяет достоверно прогнозировать грибостойкость создаваемых полимеров. В связи с этим возникает необходимость тщательной предварительной оценки конструируемых полимеров по критерию их способности контролироваться и разрушаться микромицетами. Стандартные методы испытаний на грибостойкость основаны на принципе создания для тест-культур максимально благоприятных условий развития при инфицировании ими различных материалов и культивирования в режиме стабильных температур (+26...+28 °C) и влажности (80...90 %) [10]. Однако моделирование этих процессов в лабораторных условиях не всегда может гарантировать достоверность оценки, поскольку между термодинамическими явлениями на границе «живая система — внешняя среда» и внутриклеточными процессами есть прямая связь. Для спор грибов, находящихся на образце полимера, внешней средой является не только этот субстрат, но и окружающее его пространство, подвергающееся многофакторному влиянию. В связи с этим

учесть все составные экологического воздействия на грибную клетку не представляется возможным без физиологических и биохимических характеристик соответствующего вида микодеструктора, а также показателей изменения структуры материала, его старения и продуктов превращения, что в свою очередь обусловлено условиями эксплуатации.

Полиуретаны (ПУ) относятся к группе материалов, перспективных для защиты от микодеструкции различных металлических и деревянных конструкций, которые используются в условиях повышенной влажности [12, 15]. Проблема создания грибоустойчивых ПУ, используемых в специфических условиях замкнутого пространства, служащего рабочим и жилым помещением в течение длительного времени, становится все актуальнее [14, 17]. В настоящее время нет универсальных, идеальных средств и методов дезинфекции, гарантирующих стерильность даже в помещениях, герметически изолированных от контакта с внешней средой. Несмотря на кажущуюся возможность обеспечения контроля санитарной ситуации, предотвратить контаминацию и избежать развития грибов практически не удается. В помещениях пилотируемых орбитальных космических станций после многолетней эксплуатации на поверхности интерьера и оборудования обнаруживали колонии бактериально-грибных ассоциаций [2—5, 8]. Многие из обнаруженных видов грибов были выделены также с поверхности тела самих космонавтов, что значительно усиливает важность проблемы защиты, поскольку выделенные микроорганизмы являются причиной аллергических состояний и микозов [11, 18]. В связи с этим основой решения проблемы является повышение грибоустойчивости ПУ путем придания им свойств, обеспечивающих ингибирование функционирования микромицетов, начиная со стадии адгезии спор при контаминации, но с учетом безвредности применяемых средств и полимеров для человека [13]. Разработка таких средств основана на использовании двух форм ингибирования процесса роста — активной и пассивной. Активная предполагает применение фунгицидных препаратов путем нанесения их на поверхность материала в виде суспензий, паст, защитных пленок, лаков и т. д., включающих соответствующие ионы металлов, природные фитотоксины, вещества микробного происхождения (антибиотики, микотоксины, генерики и т. д.), а также синтезированные органические соединения [5, 15, 16, 19]. Срок действия таких препаратов ограничен вследствие летучести их составных, распада структуры под влиянием воздействия внешней среды, обуславливающих старение материала, а также

свойств микромицетов, способных сорбировать ионы металлов на клеточной оболочке, не допуская проникновения их в клетку.

Пассивная защита предполагает химическую модификацию структуры материала на молекулярном уровне, обеспечивающей недоступность для использования микромицетами данного материала и одновременное блокирование известных путей их метаболизма — Эмбдена — Мейергофа — Парнаса, глюкозо-монофосфатного и цикла трикарбоновых кислот.

Исходя из особенностей структуры синтезируемых ПУ, которая позволяет включать дополнительные группы и гетероатомы, при конструировании грибоустойчивых вариантов был использован пассивный способ защиты путем введения в структуру макромолекул металлов Zn, Cu, Sn, которые были недоступны для микромицетов [14].

При конструировании грибоустойчивых ПУ путем использования металлсодержащего компонента исходили из предположения, что фунгицидное воздействие должно характеризоваться не только эффективностью по отношению к микодеструкторам, но и не ухудшать эксплуатационные свойства защищаемого материала. А главное — быть нетоксичным по отношению к людям и всем компонентам биосферы, что в данном случае использования в закрытых помещениях орбитальных станций может обеспечиваться целостностью структуры материала и отсутствием высвобождения в окружающее пространство фунгицидных элементов. При этом полимерные материалы действуют на грибы только контактным способом, т. е. грибоустойчивость материала гарантируется при непосредственном попадании спор на его поверхность. На споры, имеющиеся в воздухе, материал не действует.

Механизм взаимодействия грибной клетки с металлами окончательно не выяснен [15]. Многовековой опыт накоплен по применению ионов Zn, Cu, Sn в борьбе с фитопатогенными грибами, что и послужило базисом для использования их против микодеструкторов. Главная роль плазмидной резистентности грибной клетки принадлежит клеточной оболочке, которая контролирует не только функции клеточного метаболизма и роста, но и адгезивные и антигенные свойства, транспорт веществ в клетку и обратно, устойчивость к воздействию токсических веществ, в том числе и ионов металлов. Она также охраняет внутреннее содержимое клетки от воздействия экстремальных факторов. Клеточная оболочка микромицетов состоит из биополимеров, включающих разные блоки: моносахариды, аминоксахара, хитин аминокислоты, мукополисахариды (полимеры галактозамина), которые

обеспечивают адгезию к поверхности субстрата. Ионы металлов связываются грибной клеткой в течение нескольких минут. А образующиеся комплексы локализуются во фракциях клеточных стенок и клеточных мембран. Фунгицидность соответствующих ионов металлов определяется в том числе уровнем асимметричного распределения их ионов между средой и грибной клеткой, а также транспортом из среды в клетку и обратно. У ряда видов микодеструкторов процесс транспорта ионов металлов протекает с высоким уровнем энергии метаболизма. Это отмечено для ионов К, Mn, Cu, Zn, Co, Ni, Li и т. п. Ингибирование метаболизма регулируется количеством ионов, поступающих в клетку, транспорт которых зависит от конкретных условий существования системы «микробицет — ПУ — внешняя среда». Механизм фунгицидного действия металлосодержащих сополимеров обусловлен отщеплением из боковых Zn- и Sn-содержащих групп продуктов гидролиза (гидроксидов трибутилолова и цинка), губительно действующих на микробицеты [1, 16].

Механизм фунгицидного воздействия синтезированных ПУ методом включения металлосодержащих фрагментов в структуру макромолекул ПУ пока можно объяснить по аналогии с другими способами проявления токсического воздействия на грибную клетку.

Учитывая специфику формирования комплексов микробицетов на различных ПУ, их динамику роста и активность, для проведения исследований по установлению фунгицидности был осуществлен предварительный скрининг по отбору наиболее активных тест-культур на образцах, не содержащих металлогорганосоединений. Для опытов использовали штаммы, которые выделены из помещений орбитальных станций [4, 6]. Наиболее активными оказались штаммы *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *P. chrysogenum* и *Aspergillus oryzae*.

Синтезированные полиуретаны, макромолекула которых содержит фрагменты ацетилацетонов олова, цинка, меди и свинца, проявляли контактное фунгицидное действие. При этом следует отметить, что активность его проявлялась в ингибировании процесса прорастания спор и сохранения жизнеспособности в пределах 3—10 сут, после чего наблюдался лизис клеточной оболочки. Контроль состояния жизнеспособности продолжали 40 сут, после чего были сделаны окончательные выводы о фунгицидном воздействии ПУ. Очевидно, механизм действия синтезируемых ПУ на грибную клетку включает стрессовый фактор, ингибирующий метаболизм. Поскольку у микробицетов, помимо имею-

щихся у всех эукариот макроэргических соединений (нуклеозидтрифосфатов), имеется еще и альтернативный вариант доноров фосфора и энергии (неорганические полифосфаты), которые, кроме процессов запасаения и расходования энергии, участвуют в поддержании ионного баланса, в структурной организации клеточной оболочки, а также в регуляции активности ферментов метаболизма ДНК, РНК, полисахаридов, а также в регуляции экспрессии генов. Пролонгированный контроль жизнеспособности, ее потери и возобновления должен проводиться с учетом экстремофильных возможностей грибной клетки.

Защитные мероприятия по поддержанию необходимого санитарно-гигиенического уровня в помещениях орбитальных станций не должны ограничиваться только применением материалов, обладающих фунгицидными свойствами. Поскольку постоянное инфицирование орбитальной станции происходит в связи с ее герметичностью, то занесенную до старта инфекцию можно улавливать специальными ловушками, что одновременно может ингибировать активность спор, находящихся в воздухе. Очевидно, необходимо создать специальную технологическую схему гарантированной защиты от микробицетов в Космосе.

1. Андреева Е. И., Ахматова Н. И. Механизм действия фунгицидов // Микол. и фитопатол.—1985.—19, вып. 3.—С. 268—276.
2. Викторов А. Н., Новикова Н. Д., Дешева Е. А. Микрофлора кабин пилотируемых космических объектов и проблема биоповреждений // Авиакосм. и экологическая медицина.—1992.—№ 3.—С. 41—48.
3. Викторов А. Н., Новикова Н. Д., Дешева Е. А. и др. Актуальные проблемы микробиологической безопасности среды обитания орбитальных станций в условиях многолетней эксплуатации // Авиакосм. и экологическая медицина.—1995.—С. 51—55.
4. Викторов А. Н., Новикова Н. Д., Дешева Е. А. Результаты микробиологических исследований. // Орбитальная станция «Мир». — М., 2001.—Т. 1.—С. 121—151.
5. Дешева Е. А., Новикова Н. Д., Поликарпов Н. А. и др. Методы профилактики микробиологических повреждений интерьера и оборудования космических объектов // V Междунар. научно-практическая конф. «Современные проблемы биологических повреждений материалов. Биоповреждения—2002», Пенза, 19–20 ноября 2002 г. — Пенза: Дом науч.-техн. пропаганды, 2002.—С. 81—82.
6. Каневская И. Г., Орлова Е. Н. Микрофлора полимерных материалов и особенности ее формирования // Микол. и фитопатол.—1983.—17, вып. 3.—С. 189—200.
7. Коваль Э. З., Сидоренко Л. П. Микодеструкторы промышленных материалов. — Киев: Наук. думка, 1989.—192 с.
8. Козловский А. Г., Желифонова В. П., Антипова Т. В. и др. Штамм-резидент *Penicillium expansum* 2-7, ставший доминантным в ходе длительного космического полета орбитального комплекса «Мир», как продуцент антибиотиков ксантоциллина X и квестиомицина А // Успехи мед. микологии.—2004.—3.—С. 31—33.

9. Лугаускас А. Ю., Микульскине А. И., Шляужене Д. Ю. Каталог микромицетов-биодеструкторов. — М.: Наука, 1987.—340 с.
10. Методи експериментальної мікології. Справочник / Под ред. В. И. Билай. — Киев: Наук. думка, 1989.—550 с.
11. Руденко А. В., Коваль Э. З. Медицинские и санитарные аспекты микодеструкции пищевых продуктов и промышленных материалов // Вісник Одеського національного університету.—2001.—6, вип. 4.—С. 266—269.
12. Савельев Ю. В. Полиуретаны, обладающие биологической активностью // Доповіді НАН України.—1997.—№ 11.—С. 147—151.
13. Савельев Ю. В., Греков А. П., Коваль Э. З., Веселов В. Я. Биостойкость линейных полиуретанов // Укр. хим. журн.—1997.—63, № 5/6.—С. 70—73.
14. Савельев Ю. В., Робота Л. П., Руденко А. В., Коваль Э. З. Полимерные материалы, стойкие к биокоррозии в условиях замкнутого пространства: пути создания. // Космічна наука і технологія. Додаток.—2003.—9, № 2.—С. 24—26.
15. Середницький Я. А., Коваль Э. З., Теодорович Д. О. и др. Устойчивость к грибной коррозии и биологическому обрастанию некоторых полиуретановых эластомеров // Микробиол. журн.—1978.—40, № 1.—С. 20—25.
16. Черноукова З. Г., Новоспасская Н. Ю., Емельянов Д. Н., Смирнов В. Ф. Новые олово- и цинксодержащие полимеры для защиты материалов от биоразрушений // V Междунар. научно-практическая конф. «Современные проблемы биологических повреждений материалов. Биоповреждения — 2002», Пенза, 19—20 ноября 2002 г. — Пенза: Дом науч.-техн. пропаганды, 2002.—С. 118—120.
17. Molitoris H. P. Fungi in space-related research // Укр. ботан. журн.—1990.—47, № 5.—С. 70—77.
18. Taylor G. R. Henney M. R., Ellis W. Z. Changes in the fungal autoflora of Apollo Astronauts // Appl. Microbiol.—1973.—26, N 5.—P. 804—813.
19. Wang Daxi, Li Snuyuan, Ying Yu., et al. Theoretical and experimental studies of structure and inhibition efficiency of imidazoline derivatives // Corr. Sci.—1999.—41, N 10.—P. 1911—1919.

CONCEPTUAL ASPECTS IN CREATION OF FUNGUS-RESISTANT POLYURETHANS HAVING SPECIAL PURPOSE

A. V. Rudenko, Yu. V. Saveliev, E. Z. Koval, L. I. Lenova, E. M. Voloschuk

Based upon peculiarities of the structure of synthesized polyurethanes which allows one to include additional groups and heteroatoms in the process of construction of fungus-resistant variants, the passive way of protection by means of introducing the Zn, Cu, Sn ions of metals (they were inaccessible for micromycetes) into the structure of macromolecules is used. The synthesized polyurethanes, the macromolecule of which contains the fragments of Sn, Zn, Cu and Pb acetylacetonates, manifested the contact fungicide action on those micromycet strains which were detected in the orbital station. It should be noted that its activity was demonstrated in inhibiting the process of spore sprouting and vitality maintaining during 3 to 10 days, with lysis of cell wall to follow.

УДК [578.864+633.11]:57.043:577.359

© Л. Т. Міщенко, В. В. Тороп, І. А. Міщенко

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

ВПЛИВ КЛИНОСТАТУВАННЯ НА ЕЛЕКТРОПРОВІДНІСТЬ ТКАНИН ВІРУСІНФІКОВАНИХ ЛИСТКІВ ПШЕНИЦІ

Подаються результати дослідження електропровідності тканин інтактних листків пшениці сорту Апогей, інфікованої вірусом смугастої мозаїки та вирощеної за умов модельованої мікрогравітації. Показано, що вимірювання електропровідності може бути ефективним для виявлення фізіологічних змін у рослинах, спричинених впливом дії абіотичного та біотичного чинників.

ВСТУП

При створенні автотрофної ланки в контрольованих екологічних системах життєзабезпечення космонавтів при тривалих космічних місіях необхідно здійснювати повний онтогенез здорових сільськогосподарських рослин кількох поколінь. Можлива присутність деяких мікроорганізмів та вірусів в екосистемі орбітальної космічної станції вимагає всебічного вивчення їхньої взаємодії з рослинами-хазяями в умовах модельованої мікрогравітації. Перші дослідження в цьому напрямку проведено з рослинами пшениці різних сортів, інфікованими

вірусом смугастої мозаїки пшениці (ВСМП) [12, 13]. Імунологічними методами виявлено феномен елімінації вірусу після тривалого клиностакування уражених рослин [4, 5].

Для детальнішого вивчення особливостей фізіологічних процесів, що відбуваються в рослинах, інфікованих вірусом, в умовах модельованої мікрогравітації на різних рівнях організації біологічних об'єктів та з'ясування механізмів цих взаємовідносин необхідно застосовувати сучасні прилади, точні експресні методи, що дозволяють проникати в саму сутність досліджуваних процесів і явищ, не пошкоджуючи при цьому рослину. На клітинному