

М. А. ДОЛГОПОЛЬСКАЯ, А. З. ШАПИРО,
Ю. А. ГОРБЕНКО

РАЗРУШЕНИЕ ПЛЕНКООБРАЗУЮЩЕЙ ОСНОВЫ НЕОБРАСТАЮЩИХ КРАСОК МОРСКИМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Составление любых лакокрасочных покрытий, а в первую очередь используемых в качестве средств защиты от обрастания в море, выдвигает ряд требований, связанных с обеспечением определенных свойств пленкообразующей основы краски.

Как показали многочисленные исследования в этой области, необрастающее действие ядов, входящих в состав противообрастающих красок, связано со скоростью их выщелачивания, регулируемой свойствами пленкообразующей основы.

Известно, что для равномерной отдачи токсинов из противообрастающих красок должно происходить постоянное разрушение основы краски, которое обуславливается разными факторами: растворением, проницаемостью, механическим разрушением (эрозия) и бактериальным воздействием.

В предыдущей работе (Долгопольская, Гуревич и Шапиро, 1960) было показано влияние микроорганизмов морской воды на процесс выщелачивания ядов из противообрастающего красочного слоя, содержащего парафин и канифоль, при этом было установлено, что канифоль, а также нерастворимый в воде парафин разрушаются бактериями и используются ими в качестве питательных веществ, в присутствии которых повышается жизнедеятельность этих микроорганизмов.

Потребление бактериями некоторых пленкообразующих материалов, входящих в состав необрастающих красок, отмечали также В. О. Калининко и Н. А. Мефедова (1956), Старки (Starkey, 1957) и другие.

Как известно (Калининко, 1938; Stan'eg, 1947; Шапошников, Работнова, Ярмола, Кузнецова, 1952; Екзерцев, 1958 и др.), микроорганизмы используют в качестве источника углерода почти любые органические соединения с одним или многими атомами углерода в аэробных и анаэробных условиях.

Применяемые в настоящее время в качестве основы красок полимерные органические вещества плохо растворимы в морской воде, слабо проницаемы, достаточно устойчивы к механическому разрушению. По-видимому, единственным объяснением освобождения токсинов из такого рода пленкообразующей основы можно считать разрушение ее в результате бактериального воздействия микроорганизмов морской воды.

В задачу авторов настоящей статьи входило выяснение устойчивости некоторых лаков, входящих в качестве связующей основы в состав необрастающих красок к разрушающему действию микроорганизмов морской воды и возможности использования ими этих лаков как питательного материала. Исследованию подвергались следующие лаки: сополимер винилхлорид-винилацетат (неомыленный), сополимер винилхлорид-винилацетат

(омыленный), полиизобутилен, перхлорвиниловая смола, глифталевая смола, нитрильный каучук, петролятум¹.

Исследованию влияния бактерий на лаковые пленки предшествовали наблюдения над изменением внешнего вида пленок, погруженных в обыкновенную морскую воду и в стерильную морскую и дистиллированную воду.

Оказалось, что в морской воде, как стерильной, так и нестерильной, помутнение лаков начинается по истечении первой недели, происходит слабо и продолжается в течение всего месяца наблюдений. В дистиллированной стерильной воде лаки, за исключением сополимеров винилхлорид-винилацетата (омыленного и неомыленного) и перхлорвинила, помутнели в течение первой недели.

Большее вспучивание лаковых пленок в дистиллированной воде по сравнению с морской водой отмечает также А. Е. Мак Свини (1953, цит. по «Органические защитные покрытия», 1959).

Других видимых внешних изменений пленок заметить не удалось.

Особенностью полиизобутиленового лака является его медленное высыхание на воздухе. Погруженный в морскую воду, он сохраняет вязкость, становится бугристым, а через месяц по всей поверхности появляются мелкие отверстия. При более длительном выдерживании в морской воде нитрильного каучука (3—4 месяца) на нем также появляются отверстия.

Таблица 1

Количество микроорганизмов в 1 мл воды сосудов с лаковыми пленками, полученное методом посева на СПА (в тыс.)

Время экспозиции, сутки	Контроль	Сополимер винилхлорид-винилацетат (неомыленный)	Сополимер-винилхлорид-винилацетат (омыленный)	Перхлорвиниловая смола	Глифталевая смола	Нитрильный каучук	Петролятум
3	14,5	10,2	19,0	64,0	40,3	32,5	38,5
5	30,0	11,2	38,0	75,0	142,0	34,0	51,5
10	42,0	31,0	76,0	93,0	151,0	50,0	118,0
15	20,2	35,0	6,0	57,5	106,0	48,8	68,8
20	32,7	41,5	22,2	8,0	77,0	66,0	52,0
25	24,5	71,2	41,8	10,2	—	35,7	82,2
30	32,2	75,0	18,2	11,0			

В основу исследований был положен принцип учета числа микроорганизмов, развивающихся в морской воде в присутствии лаковых пленок, исходя из того, что лаковая пленка в какой-то мере может использоваться в качестве пищи микробами морской воды, следовательно, количество их должно возрастать по сравнению с контролем.

Опыт ставился следующим образом.

Предметные стекла (размером 18,5 см²), предварительно обработанные хромпиком, а затем обмытые сильной струей воды, асептически покрывались с одной стороны слоем лака и просушивались в течение 2—3 суток при температуре 20—22°. Стекла после просушки складывались по два так, чтобы стороны, покрытые лаком, приходились наружу. Четыре пары таких сдвоенных стекол, покрытых одним и тем же лаком, помещались в сосуды емкостью 250 см³. Сосуды с пластинками содержались при комнатной температуре (20—21°). После 3, 5, 10, 15, 20, 25 и 30-суточной экспозиции из

¹ Авторы пользуются случаем выразить благодарность Ленинградскому филиалу ГИПИ-4 за любезное предоставление лаков, использованных в данной работе.

каждого сосуда производился посев на СПА¹. Число выросших на агаре колоний подсчитывалось на четвертые сутки. Для всех испытываемых лаков методика была одинакова.

Результаты опытов (табл. 1) показали, что количество бактерий в воде почти всех сосудов, в которых находились стекла, покрытые лаками, заметно превосходит число их в контроле, который отличался от опыта лишь тем, что опущенные в сосуды стеклянные пластинки не были покрыты лаковой пленкой. Так, при посеве воды из сосудов, где помещались стекла, покрытые лаками перхлорвинил, нитрильный каучук, петролятум, число колоний микроорганизмов, выросших на агаре, оказалось в 2—3 раза большим, чем в контроле. Для глифталевой смолы число колоний было в 5—7 раз больше, чем в контроле. Число колоний для сополимера винилхлорида — винилацетата (омыленного) лишь немного превышало цифры контроля. В опыте с сополимером винилхлорида-винилацетата неомыленного рост бактерий в пробе в первые 10 дней заметно отстает от контроля. С 15-го дня количество бактерий в пробе возрастает и увеличивается по сравнению с контролем в 2—3 раза. Результаты последнего опыта, возможно, говорят о постепенном набухании лаковой пленки и последующем, более легком усвоении ее бактериями.

Подсчет количества микроорганизмов, развивающихся в морской воде в присутствии лаковых пленок, показал, что число бактерий в течение первых 10 суток во всех опытах постепенно возрастает. В последующие дни количество их заметно уменьшается. Причину этого, казалось, следует искать либо в истощении в лаках тех веществ, которые могут быть использованы бактериями в качестве пищи, либо, ввиду небольших объемов воды в опыте, — в накоплении продуктов жизнедеятельности бактерий в концентрациях, токсичных для них.

Приняв первое предположение, т. е. возможность истощения в лаках используемых бактериями веществ, нужно было проверить, будет ли возрастать количество микробов в присутствии таких «обедненных» лаковых пленок, одновременно исключив воздействие уже накопившихся продуктов обмена. Для этой цели стекла с лаковыми пленками после 30-дневного выдерживания их в морской воде с возросшим (в первые 10 суток) и затем снова уменьшившимся количеством бактерий извлекались из этой воды и после тщательного промывания под водопроводной струей снова помещались в свежую морскую воду. После 3-, 7- и 10-дневной экспозиции производился высев воды на МПА. Подсчет числа выросших колоний микробов и сравнение его с контролем показало, что не только прекратилось ранее наступившее угнетение развития микробов, но, наоборот, снова начался интенсивный рост (табл. 2).

Таблица 2

Количество микроорганизмов в 1 мл воды сосудов с лаковыми пленками (после смены воды), полученное методом посева на СПА (в тыс.)

Время экспозиции, сутки	Контроль	Сополимер винил-хлорид-винилацетат (неомыленный)	Сополимер винил-хлорид-винилацетат (омыленный)	Перхлорвиниловая смола	Глифта-левая смола	Нитрильный каучук	Петролятум
3	6,5	24,00	26,25	15,75	—	20,75	57,75
7	9,0	42,25	32,00	27,50	—	57,50	30,00
10	6,5	20,00	14,75	11,25	—	19,75	20,25

¹ Триптический гидролизат рыбной муки (60%) и агар-агара (40%).

Таким образом, очевидно, что наступившее после 10 дней торможение в развитии бактерий в опыте обусловлено не истощением запаса питательных веществ, а главным образом накоплением продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

Для проверки результатов, полученных методом подсчета числа колоний, развивающихся на СПА, параллельно был использован метод прямого счета числа бактерий, оседающих на лаковые пленки.

Из четырех сдвоенных стекол, покрытых лаком и погруженных в один сосуд, через 3, 5, 10 и 30 суток поочередно извлекалась одна пара стекол для непосредственного прямого счета. На каждом из стекол при помощи микроскопа с фазовоконтрастным устройством при увеличении в 600 раз просчитывалось 50—100 полей зрения по всей свободной поверхности стекла, отступая 0,5 см от краев.

Микроскопирование выросших колоний из нескольких чашек Петри показало, что все культуры представляли собой подвижные и неподвижные бактериальные палочки. Только одна колония состояла из морфологически близких к кокковым формам бактерий. При подсчете числа бактерий учитывались лишь палочковидные формы, так как они хорошо отличаются от других частичек, также оседающих из морской воды. Кроме отдельных бактериальных палочек подсчитывалось также число микроколоний, состоящих из многих или нескольких однородных палочек.

Так как на поверхности лаковых пленок, как и на контрольном стекле, еще до погружения их в морскую воду, могли находиться попавшие из атмосферы бактерии, на некоторых пластинках перед постановкой опыта подсчитывалось число осевших на них палочковидных форм бактерий. Это количество в дальнейшем вычиталось из числа бактерий, осевших в опыте. Часть лаковых пленок была несколько бактерицидна по отношению к воздушной микрофлоре, так как перед помещением в воду на них насчитывалось в 4—5 раз меньше бактериальных палочек, чем на стекле-контроле.

Результаты прямого подсчета бактерий, осевших на лаковых пленках, представлены в табл. 3.

Таблица 3

Количество микроорганизмов на лаковых пленках, полученное методом прямого микроскопического счета (в тыс.)

Время экспозиции, сутки	Контроль	Сополимер винилхлорид-винилацетат (неомыленный)	Сополимер винилхлорид-винилацетат (омыленный)	Перхлорвиниловая смола	Глифта- левая смола	Нитриль- ный каучук
В момент постановки опыта	176	30		38	—	—
	1940	2020	2420	10000	10000	7300
3	155	200	190	1130	1450	800
	2370	2670	2940	3530	68800	5470
5	110	160	930	680	450	770
	1020	1600	3300	11000	67000	15000
10	50	140	230	1160	5300	1250
	1140	910	1820	2940		4650
30	30	510	264	177	—	120

Примечание. Числитель обозначает число отдельных бактерий, знаменатель — число микроколоний.

Как видно из данных табл. 3, на всех пленках, погруженных в морскую воду, за исключением пленки полиизобутилена, в течение всего опыта бактерии оседают в большем количестве, чем на чистое стекло. Различие между оседанием микроорганизмов на лаковую пленку и чистое стекло, возможно, обусловлено не только физико-химическими силами адсорбции, возникающими на границе раздела фаз: морская вода — стекло, морская вода — пленка лака, но и теми питательными веществами, которые представляет бактериям лаковая пленка.

Свойство бактерий скапливаться у края мазка корабельной краски, нанесенной тонким слоем на предметное стекло, а также в микроскопических разрывах и трещинах этой краски, отмечали также В. О. Калинин и Н. А. Мефедова (1956).

Особенно много палочковидных бактерий, по сравнению с контролем, насчитывалось на перхлорвиниловой пленке, глифталевой смоле, нитрильном каучуке, меньше — на пленке омыленного и неомыленного сополимера винилхлорид — винилацетата. Петролатум из-за сильного помутнения не микроскопировался. Динамика оседания бактерий на лаковых пленках по дням выражается постепенным возрастанием количества оседающих единичных палочковидных бактерий и развивающихся микроколоний. Достигая максимума к 10-му дню, количество их затем уменьшается (исключение составляет пленка сополимера винилхлорид-винилацетат омыленный и глифталевая смола, на которых максимум бактерий отмечен, как и в контроле, на 5-й день).

Табл. 3 показывает также, что число одиночных бактерий и микроколоний на опытных образцах больше, чем в контроле. Положительное влияние лаков на развитие бактерий вытекает также из соотношения числа одиночных палочек и микроколоний в контроле и на опытных образцах.

При подсчете числа осевших микроорганизмов было замечено, что на 30-е сутки бактериальный состав микрофлоры, как в контроле, так и на опытных образцах, заметно изменился. Палочковидные бактерии стали редуцироваться и уменьшаться в размерах. Наряду с этим появились бактериальные нити размерами от 10 до 300 μ . Особенно много их оказалось на перхлорвиниловом лаке, несколько меньше — на стекле-контроле и омыленном и неомыленном сополимере винилхлорид-винилацетата. На нитрильном каучуке таких нитей не обнаружено.

Аналогичную смену бактериальных ассоциаций в воде в течение опыта отмечали А. А. Ворошилова и Е. В. Дианова (1937), полагая при этом, что подобная смена бактериального населения протекает непрерывно и в море.

Для определения устойчивости ряда лаков, входящих в состав необрастающих красок, к разрушающему действию микроорганизмов морской воды, в настоящей работе, как выше было сказано, использовано два метода: 1) метод прямого счета числа бактерий, оседающих на лаковую пленку, погруженную в морскую воду; 2) метод подсчета колоний микроорганизмов, вырастающих на МПА после посева морской воды, в которой находились покрытые лаком стеклянные пластинки.

Оба метода привели к одному результату, хотя абсолютные количества бактерий, учитываемых в обоих случаях, по вполне понятным причинам, не совпадают. Значительно большее количество бактерий, обнаруженных методом прямого счета, обусловлено, с одной стороны, адсорбционной способностью поверхности опытных пластинок (как стекла, так и лаковой пленки), с другой стороны — привлечением микроорганизмов к поверхности неокрашенного стекла различными адсорбированными на нем органическими частичками (Zobell a. Anderson, 1936), а в случае окрашенной поверхности — теми органическими веществами, которые могут входить в состав краски.

Вторым методом учитывалось количество бактерий, развивающихся и находящихся только в воде, в которую были погружены стекла, покрытые пленкой лака, и таким образом использующие те органические вещества, которые могли поступать в воду в растворенном состоянии (возможно и в результате освобождения их микробами, сидящими непосредственно на пленке).

Сопоставление этих двух методов прямого и косвенного, взаимно дополняющих и, как мы видим, заменяющих друг друга, имеет большое значение в тех случаях, когда применение одного из них по каким-либо обстоятельствам не осуществимо, например, если испытуемый лак или любое лакокрасочное покрытие имеет темный цвет, непрозрачно, и прямой счет возможен только при применении флюоресцентной микроскопии.

Устойчивость некоторых виниловых соединений и глифталевой смолы к бактериальному воздействию исследовал также Старки (1957), пользуясь методом определения кислородной адсорбции, т. е. интенсивностью поглощения кислорода бактериями, развивающимися на опытных образцах, и методом учета потери веса испытуемых веществ.

Как и в наших исследованиях, так и по данным Старки, глифталевая смола легко разлагается морскими микроорганизмами.

Что касается виниловых соединений, то, как указывает Старки, в течение первых 5 суток они устойчивы к бактериальному воздействию. К сожалению, последующих наблюдений он не проводил.

Как показали и наши наблюдения, виниловые соединения действительно не поддаются разрушающему действию бактерий в течение первых 5 суток, однако в дальнейшем они используются морскими микроорганизмами так же, как и другие лаки. Таким образом, совершенно очевидно, что подобные исследования нельзя ограничивать кратковременными наблюдениями.

Из проведенной работы вытекает, что испытанные нами вещества как ингредиенты основы необрастающих красок поддаются разрушению бактериями морской воды и в какой-то мере используются ими в качестве питательных веществ, способствующих их жизнедеятельности.

ЛИТЕРАТУРА

- Ворошилова А. А. и Дианова Е. В. 1937. Роль планктона в размножении бактерий и изолированных пробах морской воды.— Микробиология, т. VI, вып. 6.
- Долгопольская М. А., Гуревич Е. С., Шапиро А. З. 1960. Влияние бактериальной пленки на процесс выщелачивания ядов из противообрастающего красочного слоя.— Труды Севаст. биол. станции, т. XIII.
- Екзерцев В. А. 1958. Изучение процесса разрушения нефти микроорганизмами в анаэробных условиях.— Микробиология, т. XXVII, вып. 5.
- Калиненко В. О. 1938. Роль плесневых грибов, актиномицетов и бактерий в разрушении каучука.— Там же, т. VII, вып. 1.
- Калиненко В. О. и Мефедова Н. А. 1956. Бактериальное обрастание подводных частей корабля.— Микробиология, т. XXV, вып. 2.
- Органические защитные покрытия. 1959. Пер. с англ.
- Шапошников В. Н., Работнова И. Л., Ярмола Г. А., Кузнецова В. М., 1952. О развитии бактерий за счет натурального каучука.— Микробиология, т. XXI, вып. 2.
- Stanier B. 1947. Acetic acid production from ethanol by fluorescent *Pseudomonas*.— J. Bact., v. 54, N 2.
- Starkey R. 1957. Susceptibility of matrix constituents of antifouling paints to microbial attack in sea water.— Canad. J. Microbiol., 3, N 2.
- Zobell C. E. and Anderson D. Q. 1936. Observations on the multiplication of bacteria in different volumes of stored sea water and the influence of oxygen tension and solid surfaces.— Biol. Bull., 71, ref. 25.