



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40255 (13) U
(51) МПК (2009)
A01G 7/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЗАСТОСУВАННЯ БІОЦИДНОГО ПОЛІМЕРУ ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ ГІДРОХЛОРИДУ ЯК СТЕРИЛІЗАТОРА РОСЛИННОГО МАТЕРІАЛУ

1

2

(21) u200813675

(22) 26.11.2008

(24) 25.03.2009

(46) 25.03.2009, Бюл. № 6, 2009 р.

(72) ЧАБАНИЮК ЯРОСЛАВ ВАСИЛЬОВИЧ, UA, БУ-
НАС АЛЬОНА АНАТОЛІЙВНА, UA, ОПРИШКО НА-ДІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА, UA, ФЕДАК ЛІЛІЯ ІВАНІВ-
НА, UA

(73) ІНСТИТУТ АГРОЕКОЛОГІЇ УААН, UA

(57) Застосування біоцидного полімеру полігекса-
метилenguанідину гідрохлориду як стерилізатора
рослинного матеріалу.

Корисна модель, що заявляється відноситься до загальної мікробіології і може використовуватися в лабораторних умовах для стерилізації (дезінфекції) рослинного матеріалу в мікробіологічних, фізіолого-біохімічних та біотехнологічних дослідженнях. В якості рослинного матеріалу використовуються вегетативні та генеративні органи рослин.

Для обробки рослинного матеріалу використовують бромну воду, формальдегід, етиловий спирт, перманганат калію, пероксид водню, солі ртуті, метанол, меркурфосфат та неорганічні кислоти. Ефективність стерилізації більшістю вище зазначених речовин становить 98-100 %, проте це дуже небезпечно, як для рослинного організму так і для людини, оскільки більшість з них - токсичні та канцерогенні.

Перекис водню (речовина - аналог) - (H_2O_2) прозора речовина без кольору та запаху, сильний окисник. Широко використовується для обробки гнійних ран, слизових оболонок ротової порожнини, гінекологічних захворюваннях; дезінфекції приміщень, меблів, посуду, резини, скла; стерилізації та перед стерилізаційної обробки дослідного матеріалу в біотехнології.

Рослинні тканини самі по собі можуть слугувати джерелом зараження, так як на їх поверхні завжди знаходиться епіфітна мікрофлора. Стерилізацію рослинного матеріалу проводять 10-12 % розчином перекису водню (по Гродзинському, 19--; Р. Г. Бутенко, 1999). Недоліки: швидко розкладається в навколишньому середовищі під дією світла, пилу, короточасна дія, здійснює місцево-подрозносячу та шкірно-резобитивну дію.

Біоцидний полімер полігексаметиленгуанідину гідрохлорид- $[-(CH_2)_2-NH-C(NH+CL)-NH-]_n$, де $n = 4-$

5) - відомий препарат, 30%-ний водний розчин якого являє собою напівпрозору рідину жовтуватого або коричневатого кольору, добре розчинний у воді. [П. А. Гембицкий, И. И. Воинцева Полимерный бицидный препарат полигексаметиленгуанидин Полиграф, Запорожье, 1998, 42 с.]

Його застосовують [див. Санітарно-гігієнічні вимоги і умови застосування розчинів препарату "Акватон-10" для знезараження технологічного обладнання в локальних системах водообробки. Інструкція І 9.9.4.9.4.5.-060-2000 Київ 2000]:

- у водопідготівці в якості знезаражувачого реагенту з флокулюючими властивостями;

- для обробки ємкостей з метою консервації води;

- для знезараження води в локальних системах очищення;

- для обробки і знезараження води плавальних басейнів, а, також води технічного призначення;

- для промивання і знезараження фільтрів, укомплектованих мембранами, сорбційним і іншим фільтруючим обладнанням. По токсикометричним параметрам препарат відноситься до малотоксичних речовин (3-4 клас небезпечності за ГОСТ 12.1007-76).

Він не викликає сенсibilізації організму, подразнення шкіри та слизових оболонок, не має кумулятивних, мутагенних та канцерогенних властивостей, не має запаху. За допомогою цього препарату можна проводити дезінфікуючі роботи в присутності людей. Він не потребує використання традиційних засобів індивідуального захисту очей і слизових оболонок; не має іншої побічної дії.

Завданням корисної моделі, що заявляється, є виявлення властивостей, що обумовлюють вико-

(19) UA (11) 40255 (13) U

ристання біоцидного полімеру для стерилізації рослинного матеріалу в мікробіологічних, фізіолого-біохімічних та біотехнологічних дослідженнях.

Технічним результатом корисної моделі, що заявляється, є підвищення стерильності рослинного матеріалу та створення більш безпечних умов праці.

Препарат (речовина), що заявляється, тобто водний розчин біоцидного полімеру полігексаметиленгуанідину гідрохлориду, завдяки його бактерицидній (антисептичній) дії пропонується для використання в лабораторних умовах з метою стерилізації (дезинфекції) рослинного матеріалу в мікробіологічних, фізіолого-біохімічних та біотехнологічних дослідженнях. Він має цілий ряд властивостей, які вигідно відрізняють його від інших препаратів того ж призначення:

- нетоксичний для теплокровних (3-4 клас небезпечності за ГОСТ 12.1007-76);

- не має шкірно-подразнюючих, кумулятивних, мутагенних та канцерогенних властивостей; не леткий; гарно розчиняється у воді, але не розкладається; не викликає корозії обладнання і безпечний у використанні;

- дозволяє проводити контроль розвитку мікроорганізмів в різноманітних фізичних умовах;

- добре переноситься рослинами незалежно від стадії розвитку.

Механізм дії препарату полягає в руйнуванні клітинних мембран мікроорганізмів, блокуванні обмінних функцій ферментів та пригніченні дихальної системи клітини. Крім того, препарат утворює тонку полімерну плівку на оброблюваних поверхнях, створює захисну оболонку, тим самим захищаючи рослину.

Приклад.

Лабораторією Екології ґрунтових мікроорганізмів Інституту агроєкології УААН було проведено ряд досліджень:

1. Встановлення ефективності стерилізації рослинного матеріалу латентного періоду (насіння) для мікробіологічних досліджень у лабораторних умовах із застосуванням розчинів біоцидного полімеру полігексаметиленгуанідину гідрохлориду та перекису водню. Для цього готували розчини біоцидного полімеру полігексаметиленгуанідину гідрохлориду в концентрації від 1 % до 4 % по діючій речовині розчиненням твердої солі у дистильованій воді та розчин перекису водню у концентрації 12 %.

Насіннєвий матеріал замочували в розчинах стерилізаторів протягом 15 хвилин для перекису водню та 3 хвилини для біоцидного полімеру полігексаметиленгуанідину гідрохлориду. Далі оброблений матеріал розкладали в стерильні чашки Петрі з попередньо розлитим середовищем МПА. Контрольний варіант обробляли стерильною дистильованою водою. В якості тест-культури використовували насіння пшениці сорту Миронівська 67. Чашки інкубували в термостаті при температурі 27 °С протягом трьох діб. Після цього проводили візуальний підрахунок колоній на чашках.

Встановлено, що з діапазону концентрацій від 1 % - 4 % найбільш ефективною виявилась концентрація 2 % по діючій речовині. Препарат (речови-

на), що заявляється, тобто водний розчин біоцидного полімеру полігексаметиленгуанідину гідрохлориду, в концентрації 2 % по діючій речовині на середовищі МПА пригнічує ріст епіфітної мікрофлори на 100 % в порівнянні з 3-4 % для перекису водню 12 %-го.

2. Паралельно проводили дослідження по визначенню ефективності збереження енергії проростання насіння. Для цього дослідний матеріал після обробки дезінфікуючими розчинами одразу розкладали на стерильний фільтрувальний папір, попередньо змочений стерильною дистильованою водою у стерильні чашки Петрі. У контрольному варіанті насіння замочували у стерильній дистильованій воді. У кожну чашку розкладали по 25 насінин, дослід проводили у чотирикратній повторності. Чашки інкубували у термостаті при температурі 27 °С протягом трьох діб. Потім візуально підраховували кількість пророслих і непророслих насінин.

Збереження енергії проростання розраховували за формулою:

$$C = 100 - (N \cdot 100 / N_k), \text{ де}$$

C - стимуляція схожості насіння,

N - загальна кількість пророслих насінин, оброблених препаратом,

N_k - загальна кількість пророслих насінин у контрольному варіанті.

[Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под. ред. Д.Г. Звягинцева. - М.: Изд-во МГУ, 1991. - 303с.]

Дослідження показали, що за обробки насіння перекисом водню 12 % та розчином солі полігексаметиленгуанідину гідрохлориду в концентрації 2 % ефективність енергії проростання дослідного матеріалу залишалася незмінною порівняно з контролем.

3. Для визначення впливу дезінфікуючих розчинів біоцидного полімеру полігексаметиленгуанідину гідрохлориду (2 %) та перекису водню (12 %) на життєздатність рослинного матеріалу та епіфітну мікрофлору було проведено дослід на рослинному матеріалі регенеративного періоду (проростках пшениці сорту Миронівська 67). Для отримання рослин регенеративного періоду, насіння замочували у стерильній дистильованій воді на 30 хвилин і розкладали на стерильний фільтрувальний папір, попередньо змочений стерильною дистильованою водою у стерильні чашки Петрі. Потім чашки інкубували в термостаті при 27 °С протягом трьох діб. Далі проростки оброблялися дослідними стерилізаторами: розчином біоцидного полімеру полігексаметиленгуанідину гідрохлориду (2 %) - 3 хвилини, перекисом водню (12 %) - 15 хвилин. Контрольний варіант обробляли стерильною дистильованою водою. Збереження життєздатності проростків пшениці визначали шляхом культивування на селективному середовищі (для росту і проліферації каллюса) Мурасиге-Скуга при 27 °С протягом семи діб [Калинин Ф.Л., Кушнір Г. П., Сарнацкая В.В. «Технология микрорепродукции растений» // Киев Наукова думка 1992. \ 226с]. Ефективність стерилізації проростків пшениці визначали розкладаючи оброблений матеріал в стерильні чашки Петрі з попередньо роз-

литим середовищем МПА. Чашки інкубували при 27°C, візуальний підрахунок колоній проводили

через п'ять діб.

Результати дослідів представлені в таблиці.

Варіант обробки	Кількість насінин оброслих колоніями		Життєздатність проростків, %
	бактеріальними	фунгальними	
Контроль	28	2	100
Розчин біоцидного полімеру полігексаметилenguанідину гідрохлориду	10	0	100
Перекис водню (12 %)	16	8	100

Отже проведені дослідження вказують на перспективність застосування біоцидного полімеру полігексаметилenguанідину гідрохлориду, як препарату для стерилізації рослинного матеріалу в

лабораторних умовах при проведенні мікробіологічних, фізіолого-біохімічних та біотехнологічних досліджень.