

600 пар, зберігаючись на такому ж рівні у 2007 році. Таким чином, лиска залишається другим по чисельності видом водоплавних птахів на озері Енгуре після мартина озерного *Larus ridibundus*.

5. Зменшення чисельності лисок, які гніздяться, порівняно з літературними даними, малоімовірно пов'язане зі зменшенням щільності популяції цього виду, а швидше відображається у зв'язку зі зменшенням площі придатних для гніздування на озері територій.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Блум П.Н. Лысуха (*Fulica atra* L.) в Латвии. – Рига: Зинатне, 1973. – 156 с.
2. Блум П.Н. Материалы по биологии лысухи в Латвийской ССР // Материалы III Всесоюзной орнитологической конференции. – Львов, 1962. – С. 42-43.
3. Блум П.Н. О смертности лысух (по данным кольцевания) // Материалы VII Прибалтийской орнитологической конференции. – Рига, 1970. – С. 49-53.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учебное пособие для биологич. спец. вузов. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.
5. Мянд Р. Внутрипопуляционная изменчивость птичьих яиц. – Таллин: Вагус, 1988. – 195 с.
6. Паевський В.А. Демографія птахів. – Л.: Наука, 1985. – 285 с.
7. Blūms P.N. Lauča lizdošanas biologija. Diplomdarbs: Pēteris Stučka Latvijas valsts universitāte. – Rīgā, 1961. – P. 40 – 58.
8. Cramp S. (ed.) The Birds of Western Palearctic. Vol. 2. – Oxford, Oxford Univ. Press, 1992. – P. 599 – 610.
9. Hoyt D.F. Practical methods of estimating volume and fresh weight of bird eggs // Auk. – 1979. – Vol. 96. – P. 73-77.

УДК 541.13:620.193.8

## МЕТАБОЛІЧНА ТА КОРОЗІЙНА АКТИВНІСТЬ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ ЗА ПРИСУТНОСТІ ЧЕТВЕРТИННИХ СОЛЕЙ ТРИАЗОЛОАЗЕПІНІУ

Демченко Н.Р., асистент, Курмакова І.М., к.х.н., доцент,  
Третяк О.П., к.б.н., доцент

Чернігівський державний педагогічний університет імені Т.Г.Шевченка

Досліджено вплив бромідів триазолоазепінію на метаболічну та корозійну активність асоціації сульфатвідновлювальних бактерій, динаміку їх чисельності в планктоні та біоплівці, сформованої на поверхні маловуглецевої сталі. Встановлено, що за присутності четвертинних солей триазолоазепінію пригнічується розвиток та сульфатредуюча активність асоціації, зменшується швидкість біокорозійного процесу.

Ключові слова: сульфатвідновлювальні бактерії, четвертинні солі триазолоазепінію, мікробна корозія.

Демченко Н.Р., Курмакова І.М., Третяк О.П. МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ И КОРРОЗИОННАЯ АКТИВНОСТЬ СУЛЬФАТВОССТАНАВЛИВАЮЩИХ БАКТЕРИЙ В ПРИСУТСТВИИ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ СОЛЕЙ ТРИАЗОЛОАЗЕПИНИЯ / Черниговский государственный педагогический университет имени Т.Г.Шевченко, Украина

Исследовано влияние бромидов триазолоазепиния на метаболическую и коррозионную активность ассоциации сульфатвосстанавливающих бактерий, динамику их численности в планктоне и биопленке, сформированной на поверхности малоуглеродистой стали. Установлено, что в присутствии четвертинных солей триазолоазепиния угнетается развитие и сульфатредуцирующая активность ассоциации, уменьшается скорость биокоррозионного процесса.

Ключевые слова: сульфатвосстанавливающие бактерии, четвертинные соли триазолоазепиния, микробная коррозия.

Demchenko N. R., Kurmakova I. M., Tretiak O.P. METABOLIC AND CORROSION ACTIVITY OF SULFATEREGENERATING BACTERIUMS WITH OCCURRENCE OF QUATERNARY SALTS OF TRIASOLOASEPINIUM / Shevchenko state pedagogical university of Chernigiv, Ukraine

Influence of triazoloazepinium bromides on metabolic and corrosive activity of association of sulphate-reducing bacteria, dynamics of their quantity in a plankton and biofilm, formed on the surface of steel St3PS have been investigated. It was determined that the development and sulphate reduction activity of association of SRB are oppressed and the speed of biocorrosion process is slowed down in presence of quaternary salts of triazoloazepinium.

*Key words: sulphate-reducing bacteria, quaternary salts of triazoloazepinium, microbial corrosion.*

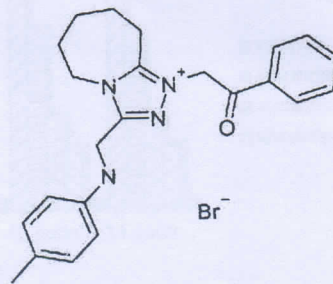
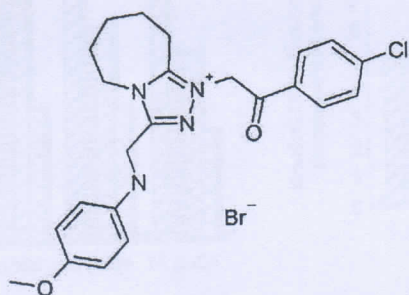
## ВСТУП

Мікробна корозія (МК) зумовлена діяльністю мікроорганізмів, які формують біоплівку на металевій або іншій поверхні, що піддається корозійному руйнуванню. Найактивнішими агентами МК металевих споруд і нафтового обладнання є сульфатвідновлювальні бактерії (СВБ) [1]. Вони індують процес корозії за рахунок катодної деполяризації металу та власного метаболіту – сірководню. Раціональним шляхом зменшення швидкості процесу МК вважається використання органічних сполук з інгібуючими та біоцидними властивостями [6]. Біоцидні та протикорозійні властивості мають сполуки, які містять четвертинний азот (солі амонію або піридинію) [5]. Нами встановлено [3] біоцидну дію четвертинних солей триазолоазепінію щодо СВБ. Серед органічних сполук даного ряду виявлено ефективні біоциди з неконкурентним типом інгібування росту бактерій. Мета роботи – дослідити вплив бромідів триазолоазепінію на динаміку чисельності клітин СВБ у планктоні та біоплівці, їх метаболічну і корозійну активність в залежності від концентрації речовин.

## ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом дослідження була асоціативна культура сульфатвідновлювальних бактерій, одержана нами з феросфери кородуючої поверхні газопроводу методом накопичення на середовищі Постгейта «В» (СП). У досліді використовували тридобову асоціативну культуру СВБ з початковим титром  $10^8$  кл/мл, що є корозійно небезпечним [1].

В якості інгібіторів МК досліджували бромід 1-[2-(4-хлорофеніл)-2-оксоетил]-3-(4-метоксіанілінометил)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,5-а]азепінію-1 (ЧСТА I) та бромід 1-(оксо-2-фенілетил)-3-(толуїдинометил)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,5-а]азепінію-1 (ЧСТА II).



Дослідження проводили мікробіологічними, біохімічними та масометричними методами. Масометричні корозійні дослідження проводили в герметичних ємностях на зразках маловуглецевої сталі СтЗПС циліндричної форми (площа поверхні  $10 \text{ cm}^2$ ) у нейтральному середовищі Постгейта «В», інокульованому асоціативною культурою СВБ без (контроль) та за наявності ЧСТА I (концентрація 0,1 г/л; 0,5 г/л; 1,0 г/л) та ЧСТА II (концентрація 0,5 г/л). Перед дослідом зразки занурювали на 20 с у розчин  $6 \text{ N H}_2\text{SO}_4$  для зняття оксидних плівок з поверхні металу та активізації електрохімічних процесів [9]. Після досліді обробляли механічно та хімічно з метою видалення продуктів корозії з їх поверхні. Час експозиції – 168, 240 та 336 годин за температури  $28^\circ\text{C}$ . За втратою маси зразків розраховували швидкість корозії ( $K_m$ ,  $\text{g}/(\text{m}^2 \times \text{год.})$ ), коефіцієнт гальмування корозійного процесу ( $\gamma_m$ ) та захисний ефект ( $Z_m\%$ ) за формулами:

$$K_m = \Delta m / S \cdot \tau; \gamma_m = K_m / K_m'; Z_m = (1 - 1/\gamma_m) \times 100 \% [5],$$

де  $\Delta m$  – втрата маси зразка (г),  
 $S$  – площа поверхні зразка ( $\text{m}^2$ ),  
 $\tau$  – час експозиції (год),  
 $K_m$  та  $K_m'$  – швидкість корозії в СП за присутності бактерій без та з ЧСТА відповідно.

Відносний ступінь впливу інгібітора на сульфатредукцію розраховували за формулою:

$$S = (C_d - C_k) \times 100 \% / C_k [7],$$

де  $S$  – відносний ступінь впливу інгібітора на сульфатредукцію;

$C_d$  та  $C_k$  – середня концентрація сірководню в середовищі з інгібітором (дослід) та в контролі.

Бактерії з біоплівки, утвореної на металевих зразках, знімали у фіксований об'єм 0,1 N фосфатного буфера (рН 7,0) за допомогою ультразвуку за частоти 25 кГц (30 с) двічі з інтервалом 60 с з використанням приладу УЗМ-003/н. Титр вільноплаваючих клітин (планктон) та адгезованих на поверхні металу в одержаному змиві визначали за методом граничних десятикратних розведень [8], вміст білка – методом Лоурі, концентрацію біогенного сірководню за методом йодометричного титрування [2]. Статистичне опрацювання результатів експерименту проводили за рівнем значності 0,05, повторність трикратна. Відносна похибка наведених результатів не перебільшує 10%.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Критерієм ефективності дії біоцида-інгібітора за умов МК є титр планктонних та адгезованих (входять до складу біоплівки на поверхні металу) клітин СВБ, концентрація біогенного сірководню – метаболіту бактерій та вміст білка в корозійному середовищі. Результати дослідження впливу четвертинних солей триазолоазепінію на чисельність клітин СВБ в біоплівці та планктоні наведено на рис.1 (а, б) та рис.2 (а, б).

Встановлено, що ЧСТА I та ЧСТА II зменшують чисельність клітин СВБ як у біоплівці, так і в планктоні, що пояснюється біоцидними властивостями четвертинних солей триазолоазепінію [3]. За наявності в середовищі ЧСТА I, сульфатвідновлювальні бактерії формують біоплівку різної потужності за вмістом клітин в залежності від концентрації речовини: чисельність адгезованих клітин СВБ на 2 – 8 порядків менша в порівнянні з контролем. Найменш насичена клітинами СВБ біоплівка утворювалася на сталевій поверхні за наявності ЧСТА I у концентрації 1,0 г/л середовища.

У контролі поверхня зразків вкривалась чорним осадом та відбувалось помутніння корозійного середовища. За присутності ЧСТА помутніння не спостерігалось, на зразках сталі сульфідна плівка не утворювалася, а на дні ємностей випадав сіро-чорний осад, що вказувало на загибель значної кількості клітин СВБ і уповільнення процесу мікробної корозії сталі.

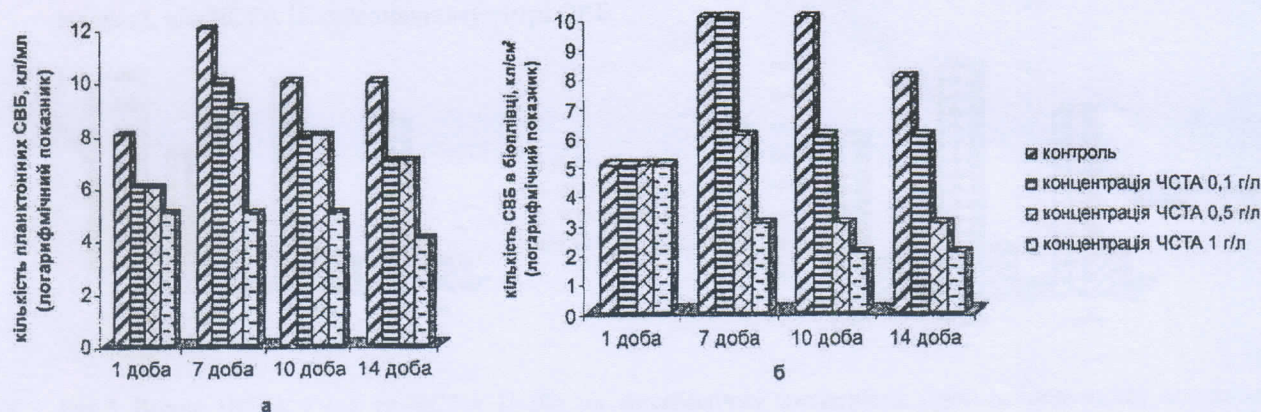


Рис.1 Чисельність клітин СВБ у планктоні (а) та біоплівці (б) в присутності ЧСТА I за умов мікробної корозії сталі СтЗПС

У контролі титр планктонних клітин збільшувався на сьому добу експерименту на 4 порядки, на десяту – зменшувався на 2 порядки та не змінювався до кінця експерименту. За присутності ЧСТА I титр планктонних клітин СВБ на сьому добу зменшувався на 2, 3 та на 7 порядків у порівнянні з контролем за концентрації речовини 0,1 г/л, 0,5 г/л, та 1,0 г/л відповідно. На десяту добу титр бактерій зменшився на 2 порядки за концентрації сполуки 0,1 г/л та 0,5 г/л і на 5 порядків за концентрації 1 г/л у порівнянні з контролем. Також змінювалась чисельності клітин в біоплівці в залежності від концентрації ЧСТА I спостерігалася і на 14 добу дослідження.

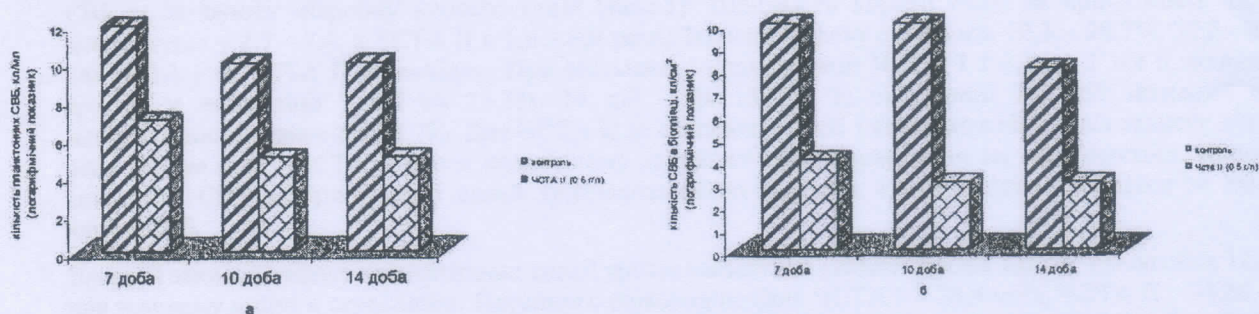


Рис. 2 Чисельність клітин СВБ у планктоні (а) та біоплівці (б) в присутності ЧСТА II за умов мікробної корозії сталі СтЗПС

Чисельність клітин планктону за присутності ЧСТА II впродовж дослідів знизилась на 5 порядків в порівнянні з контролем. Така ж тенденція спостерігається і для СВБ у біоплівці. Це може бути пов'язано з адсорбцією молекул досліджуваних речовин на негативно зарядженій поверхні сталі в сірководневому середовищі та самих клітинах, які також мають негативний заряд [5]. При цьому планктонні бактерії виявилися більш чутливими щодо ЧСТА II, що узгоджується з більшою біоцидною активністю сполуки для даної моделі росту бактерій. Клітини біоплівки виявляють більшу стійкість щодо антибактеріальних речовин, ніж планктонні. Припускається, що це обумовлено обмеженням транспорту речовин завдяки їх сорбції компонентами біоплівки [10, 11]. Така ж тенденція спостерігається і в біоплівці на 7 добу. Але, в подальшому бактерії виявляють однакову чутливість щодо обох сполук у концентрації 0,5 г/л. Це може бути пояснено різними моделями росту бактерій (адгезовані чи вільноплаваючі клітини).

Значна концентрація сірководню в середовищі Постгейта „В” із максимумом на десяту добу вказує на високу метаболічну активність СВБ. Продукування  $H_2S$  бактеріями за присутності речовин пригнічується (рис. 3). Для ЧСТА I концентрація біогенного сірководню знижується у 2,3 – 8,5 разів, а для ЧСТА II – в 4,7 – 5,7 разів. На сьому добу накопичення метаболіту в середовищі за присутності ЧСТА I менше у 2,3 – 5,4 разів порівняно з контролем, на десяту добу – в 4,4 – 8,3 рази. На 14 добу дослідів концентрація  $H_2S$  знизилась за присутності ЧСТА I в 4,0 – 8,5 разів. Тобто, метаболічна активність СВБ пригнічується речовиною до концентрації 0,5 г/л, а при подальшому підвищенні концентрації (1 г/л) ефективність дії ЧСТА I майже не змінюється. Це корелює з чисельністю планктонних клітин за присутності четвертинної солі. Порівнюючи динаміку накопичення біогенного сірководню за концентрації речовин 0,5 г/л слід зазначити, що для ЧСТА I спостерігається зменшення його кількості, а для ЧСТА II – зростання. За дії ЧСТА I сульфатвідновлювальна активність бактерій нижча, ніж для ЧСТА II. Так, на 14 добу накопичення біогенного сірководню в 1,34 рази менше. При цьому ступінь впливу речовин на сульфатредукцію за концентрації 0,5 г/л практично однаковий і складає: для ЧСТА I – 63%; 82%; 82%, для ЧСТА II – 82%; 82%; 79% відповідно на 7, 10 та 14 добу. Таким чином, встановлено, що на кінець експерименту вплив ЧСТА I на метаболічну активність бактерій більший, ніж ЧСТА II, при значному титрі СВБ.

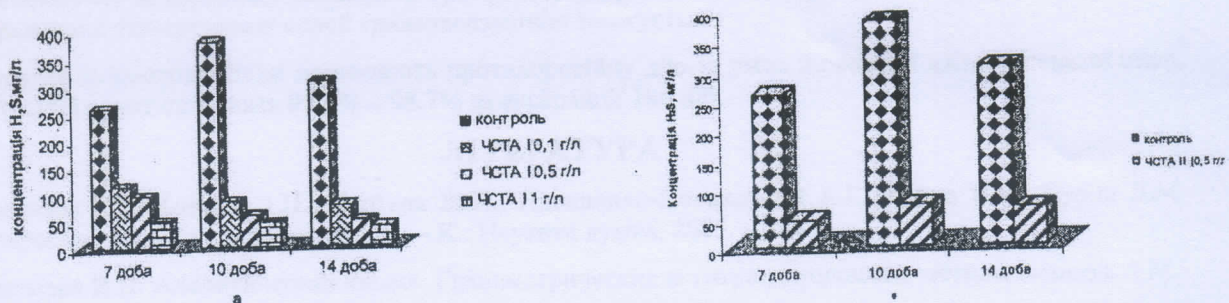


Рис.3 Вплив ЧСТА I (а) та ЧСТА II (б) на метаболічну активність (сульфатредукцію) асоціативної культури СВБ за умов мікробної корозії сталі СтЗПС

Концентрація білка за наявності ЧСТА I зменшується протягом експерименту в 2,5 – 8,5 разів в порівнянні з контролем залежно від концентрації речовини. Для ЧСТА II концентрація білка зменшується в 5,5 – 11,2 разу. Динаміка накопичення білка для досліджуваних солей однакова – біомаса бактерій в середовищі зростає. Але для ЧСТА II кількість білка на 7 та 14 добу практично в 2 рази більша, ніж для ЧСТА I. Кількість білка характеризує накопичення біомаси бактерій у корозійному середовищі, але цей показник не корелює з титром бактерій, що може бути пов'язано з розвитком в середовищі постійних асоціантів угруповання СВБ [1].

Масометричні корозійні дослідження показали, що четвертинні солі зменшують корозійну активність СВБ та інгібують мікробну корозію сталі (табл.1). Швидкість корозії сталі за присутності ЧСТА I зменшується у 2,7 – 4,6, а ЧСТА II в 1,6 – 4,0 рази. Захисний ефект становить 72,3 – 98,7%, 37,5 - 98,0% для ЧСТА I та ЧСТА II відповідно. При збільшенні концентрації ЧСТА I з 0,1 до 1 г/л її захисна дія зростає за експозиції 7 діб на 13,7%, 14 діб – на 15,3%. За експозиції 180 діб захисний ефект максимальний і становить 98,7%. Для ЧСТА II за експозиції 7 діб і концентрації 0,5 г/л захисна дія в 2,1 разів менша ніж у ЧСТА I, але в подальшому захисний ефект практично не відрізняється. Корозійна активність СВБ за присутності солей триазолоазепінію корелює з потужністю біоплівки за вмістом клітин СВБ.

Високий захисний ефект четвертинних солей триазолоазепінію (концентрація 1,0 г/л, експозиція 180 діб) при значному вмісті в середовищі біогенного сірководню (для ЧСТА I – 26,4 мг/л, ЧСТА II – 33,66 мг/л) можна пояснити синергетичною дією метаболіту [1]. Ймовірно, що за умов мікробної корозії, на поверхні сталі СтЗПС утворюється тонка сульфідна плівка, яка вкривається мономолекулярним шаром ЧСТА, що припиняє подальший її ріст і гальмує розчинення металу. Це узгоджується з встановленим

механізмом дії четвертинних амонієвих солей загальної формули  $[C_6H_5CH_2NR_1(R_2)(R_3)]^+Cl^-$  за умов сірководневої корозії [4]. Певну роль у синергетичному ефекті можуть відігравати бромід-іони, які утворюються при гідролізі ЧСТА у водно-сольовому середовищі.

Таблиця 1 – Захисна дія четвертинних солей триазолоазепінію за умов мікробної корозії сталі СтЗПС

Умовне позначення речовини	Концентрація, г/л	Захисний ефект $Z_m$ , %				
		Експозиція, доба				
		7	10	14	74	180
ЧСТА I	0,1	72,3	74,0	63,2	-	-
	0,5	79,4	75,0	65,3	-	-
	1,0	86,0	76,0	78,5	94,4	98,7
ЧСТА II	0,5	37,5	62,5	75,0	-	-
	1,0	-	-	-	51,2	98,0

Примітка: «-» – дослідження не проводилось

Таким чином, досліджені четвертинні солі триазолоазепінію знижують метаболічну та корозійну активність сульфатвідновлювальних бактерій, які є домінуючою групою в корозійно небезпечній мікробній асоціації. При збільшенні концентрації речовини ЧСТА I захисний ефект зростає, що може бути пов'язано з утворенням більш щільної адсорбційної плівки на поверхні металу.

### ВИСНОВКИ

1. Чисельність СВБ у планктоні та біоплівці, сформованій на поверхні маловуглецевої сталі, значно зменшується за присутності бромиду 1-[2-(4-хлорофеніл)-2-оксоетил]-3-(4-метоксіанілінометил)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,5-а]азепінію-1 та бромиду 1-(оксо-2-фенілетил)-3-(толуїдинометил)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,5-а]азепінію-1.
2. Метаболічна та корозійна активність сульфатвідновлювальних бактерій за наявності в корозійному середовищі четвертинних солей триазолоазепінію знижується.
3. Броміди триазолоазепінію проявляють протикорозійну дію за умов біокорозії маловуглецевої сталі, захисний ефект становить 98,0% – 98,7% за експозиції 180 діб.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Андрук К.І., Козлова І.П., Коптева Ж.П., Піляшенко-Новохатний А.І., Заніна В.В., Пуриш Л.М. Мікробна корозія підземних споруд. – К.: Наукова думка, 2005. – 298 с.
2. Васильев В.П. Аналитическая химия. Гравиметрические и титрометрические методы анализа. – М.: Высшая школа, 1989. – 320 с.
3. Демченко Н.Р., Курмакова І.М., Третяк О.П. Біоцидна дія четвертинних триазолоазепінієвих солей на корозійно небезпечні мікробні угруповання. // Науковий вісник Ужгородського університету. – Серія Біологія. 2007. – Вип. 20. – С. 18-21.
4. Кузнецов Ю.И., Фролова Л.В., Томина Е.В. Об ингибировании сероводородной коррозии сталей четвертичными аммонийными солями // Защита металлов. – 2006. – Т.42. – №3. – С.233-238.
5. Погребова И.С., Козлова И.А., Пуриш Л.М. и др. Механизм ингибирования микробной коррозии стали в присутствии сульфатредуцирующих бактерий // Фізико-хімічна механіка матеріалів. – 2001. – 37, №1. – С. 57-63.
6. Пуриш Л.М., Погребова И.С., Козлова И.А. Влияние сульфатредуцирующих бактерий на коррозию стали в присутствии ингибиторов // Микробиол. журн. – 2002. – 64, №6. – С. 67-72.
7. Резяпова И.Б. Предупреждение биодеструкции химреагентов при разработке нефтяных месторождений: Автореф. дис. ... канд. тех. наук. – Уфа, 1999. – 26 с.
8. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова. – М.: Изд-во МГУ, 1983. – 215 с.
9. Сухотин А.М. Техника борьбы с коррозией. – Л.: Химия, 1980. – 223 с.
10. Compañac C., Pineau L., Payard A. Interactions between Biocide Cationic Agents and Bacterial Biofilms // Antimicrob. Agents and Chemother. – 2002. – 46, N 5. – P. 1469 – 1474.
11. Lewis K. Riddle of Biofilm Resistance // Antimicrob. Agents and Chemother. – 2001. – 45, N 4. – P. 999 – 1007.