



УДК 579.69: 620.193.8

С.В. Приходько, І.М. Курмакова, О.П. Третяк

Чернівецький державний педагогічний університет імені Т.Г. Шевченка,
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернівці, 14013, Україна

РОЗВИТОК КОРОЗІЙНОГО МІКРОБНОГО УГРУПОВАННЯ ҐРУНТУ ЗА НАЯВНОСТІ ЛІНУРОНУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ

Показано якісну сталість корозійно небезпечного мікробного угруповання, виділеного з феросфери кородуючих підземних трубопроводів різних ґрунтів. Особливістю структури сформованого корозійно агресивного мікробного ценозу є домінування сульфатвідновлювальних і залізвідновлювальних бактерій. Розвиток асоціації залізвідновлювальних бактерій за наявності діючої речовини пестициду "Лінурон" та його похідних пригнічується. Асоціація сульфатвідновлювальних бактерій виявилася чутливою лише до похідної, що містить триазолоазепінієвий цикл та толіл.

Ключові слова: корозійно небезпечне мікробне угруповання, біоциди, інгібітори мікробної корозії, лінурон.

Процес мікробної корозії (МКК) металевих споруд здійснюється мікробним угрупованням, в якому домінуючою та найагресивнішою складовою є сульфатвідновлювальні бактерії (СВБ) [1, 13, 14]. Згідно із сучасними уявленнями [2, 6], формування корозійно агресивної мікробної сукупності відбувається в зоні ґрунту, що безпосередньо контактує з поверхнею металу — феросфері, для якої характерна якісна сталість корозійно небезпечних мікроорганізмів. Причина такої сталості полягає у трофічних і енергетичних перевагах асоціативного існування, завдяки чому за умов екстремальних техногенних навантажень забезпечуються оптимальні умови для кожного з мікроорганізмів.

Корозійна активність мікробних асоціацій, виділених з феросфери за умов руйнування підземної споруди у ґрунті, значно перевищує таку для окремих популяцій мікроорганізмів [2], тому саме асоціації застосовують як тест-культури при дослідженні процесу біокорозії та пошуку інгібіторів-біоцидів.

Мета роботи — виділити корозійно небезпечні мікробні угруповання ґрунту, вивчити їхній розвиток за наявності діючої речовини лінурону та його похідних для визначення можливості утилізації некондиційного гербіциду.

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження були мікроорганізми еколого-трофічних груп, виділені з феросфери кородуючих трубопроводів у Чернівецькій обл. (Ф1) і Карпатах (Ф2). Контроль — мікроорганізми відповідних груп з ґрунту поза зони трубопроводів (ґрунт 1 — Чернівецька обл.; ґрунт 2 — Карпати), відібраного згідно із ДСТУ 3291-95 [5].

Кількість (титр) ґрунтових бактерій визначали методом граничних десятиразових розведень при посіві ґрунтової суспензії на відповідні живильні

середовища: СВБ — на Постгейта “В”, залізівідновлювальні бактерії (ЗВБ) — на Калиненка, денітрифікувальні бактерії (ДНБ) — на Гільтая, амоніфікувальні бактерії (АМБ) — на м'ясопептонному бульйоні, вуглеводнеокиснювальні бактерії (ВОВ) — на Таусона, тіонові бактерії ацидофільні *Thiobacillus ferrooxidans* та ацидофобні *T. thioparus* — на Сільвермана і Люндгрена 9К і на Бейерінка відповідно [10]. Мікроорганізми вирощували за температури $(28 \pm 2)^\circ\text{C}$, їх чисельність перераховували на 1 г абсолютно сухого ґрунту, вологість якого визначали гравітаційним методом [8].

Корозійну активність асоціації СВБ, виділених із Ф1 та Ф2, визначали гравіметричним методом [11]. Дослідження проводили в герметичних ємностях 100 см³ із зразками циліндричної форми з маловуглецевої сталі СтЗПС площею 8,86 см² у середовищі Постгейта “В” з внесенням суспензії відповідної асоціації СВБ (3-добова) в кількості 10^7 — 10^{10} кл/мл. Зразки знежирювали ацетоном і активували (занурення на 20 с у розчин 6 н H₂SO₄ для зняття оксидних плівок з поверхні металу та активації електрохімічних процесів), після досліду обробляли механічно і хімічно з метою видалення продуктів корозії з поверхні [7]. Тривалість експозиції становила 720 год. У культуральній рідині визначали: титр СВБ [10], загальний вміст білка за методом Лоурі [8] і концентрацію біогенного сірководню методом йодометричного титрування [4].

Швидкість корозії (K_m) зразків сталі СтЗПС та ефективність захисної дії (коефіцієнт гальмування — γ , захисний ефект — Z_m) діючої речовини гербіциду лінурон та його похідних концентрацією 1 г/л розраховували за формулами: $K_m = \Delta m / S \cdot \tau$; $\gamma = K_m / K_m'$; $Z = (1 - 1/\gamma) \cdot 100\%$, де Δm — втрата маси зразка, г; S — площа поверхні зразка, м²; τ — тривалість експозиції, год; K_m і K_m' — швидкість корозії у середовищі без інгібітору та за його наявності, г/(м² · год) [11].

Біоцидні властивості діючої речовини лінурону (табл. 1) та його похідних (синтезовані під керівництвом проф. А.М. Демченко на кафедрі хімії Чернігівського державного педагогічного університету імені Т.Г. Шевченка) вивчали методом дифузії в агар з використанням паперових дисків, оброблених 0,1, 0,2 і 2%-ми спиртовими розчинами сполук і оцінювали за діаметром зони пригнічення росту мікроорганізмів [10]. Як тест-культури використовували виділені 3-добові асоціації СВБ (10^8 кл/мл) і ЗВБ (10^7 кл/мл).

Розрахунок коефіцієнта розподілення масло-вода (IgP) здійснювали за комп'ютерною програмою ACD Log P : Version 1.0.

Статистичне опрацювання результатів експерименту проводили для рівня значущості 0,05; повторність триразова.

Результати та їх обговорення. Якісний і кількісний склад мікробних угруповань феросфери та ґрунту наведено на рис. 1.

Бактерії циклу сірки представлені СВБ, ацидофобними (*T. thioparus*) і ацидофільними (*T. ferrooxidans*) тіоновими бактеріями, які окиснюють трансформований у полісульфіди сірководень — основний продукт метаболізму СВБ. Кількість останніх у феросфері перевищувала таку у ґрунті на 1,33 порядки для зразка Ф1 та на 4,30 порядки для зразка Ф2. Чисельність *T. ferrooxidans* у Ф2 перевищувала таку у Ф1 на 3 порядки, а кількість *T. thioparus* у феросферах була однаковою і становила 10^3 кл/г.

У феросфері відібраних зразків активно розмножувалися ЗВБ, що сприяло відновленню Fe³⁺ до Fe²⁺ та зниженню окисно-відновного потенціалу,

яке інтенсифікує життєдіяльність СВБ [1, 2]. Завдяки тому що Fe^{2+} входить до складу активних центрів деяких окисно-відновних ферментів мікроорганізмів, ЗВБ активували розвиток усього корозійно небезпечного мікробно-групування (рис. 1). Чисельність ЗВБ у Ф1 була вдвічі більшою, ніж у Ф2.

У Ф1 і Ф2 кількість АМБ — продуцентів аміаку та вуглекислого газу — була майже однаковою і становила $2,5 \cdot 10^4$ і $2,6 \cdot 10^4$ кл/г відповідно. Чисельність ДНБ у Ф1 перевищувала таку у Ф2 у 95 разів. У ґрунті 2 ДНБ не виявлені, але у Ф2 їх чисельність дорівнювала $2,6 \cdot 10^3$ кл/г.

Кількість ВОБ у Ф2 була більше на 4 порядки, ніж у Ф1. Бактерії цієї групи знайдені у невеликій кількості в ґрунті 2 і не виявлені в ґрунті 1.

Таким чином, встановлено якісну сталість мікробного угруповання феросфери для різних ґрунтів, що узгоджується з працею [2]. Найчисельнішими в досліджених корозійно небезпечних мікробних угрупованнях були СВБ і ЗВБ (рис. 1), співвідношення (десятковий логарифм кількості) яких у Ф1 і ґрунті 1 було практично однаковим і становило 1,27 : 1 та 1,25 : 1 відповідно, а у Ф2 та ґрунті 2 відрізняється і дорівнює 1,7 : 1 та 1,1 : 1.

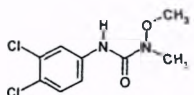
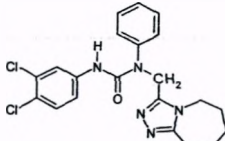
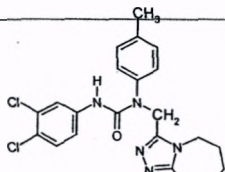
Асоціації СВБ, виділені з Ф1 та Ф2, різнилися за ступенем агресивності до маловуглецевої сталі: швидкість МІК у цих культурах різна і становила $5,1 \cdot 10^{-2}$ г/(м² · год) (Ф1) і $4,1 \cdot 10^{-2}$ г/(м² · год) (Ф2).

За умов МІК збільшувалася метаболічна активність СВБ (рис. 2). Титр досягав корозійно небезпечної кількості (10^{10} — 10^{11} кл/мл), збільшувався вміст сірководню (в 1,5 разів (Ф1) та 1,4 раза (Ф2)) і загальна концентрація білка в корозійній системі (у 2,3 разів (Ф1) і 1,5 разів (Ф2)) порівняно з інокуюваним середовищем Постгейта “В”.

Асоціація СВБ, виділена з Ф2 (Карпати), була більш корозійно агресивною, ніж з Ф1 (Чернігівська обл.): концентрація сірководню і білка більша в 1,2 раза.

Таблиця 1

Діюча речовина лінуруну (L) та його похідні (I і II)

Формула	Назва	Речовина
	N'-(3,4-дихлорфеніл)-N-метокси-N-метилсечовини (діюча речовина лінуруну)	L
	N'-(3,4-дихлорфеніл)-N-феніл-N-(6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепін-3-ілметил)сечовина	I
	N'-(3,4-дихлорфеніл)-N-n-толіл-N-(6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепін-3-ілметил)сечовина	II

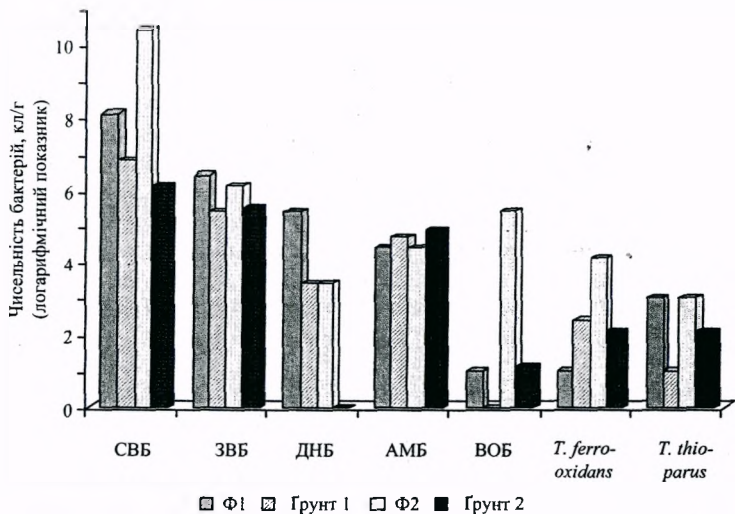


Рис. 1. Кількість бактерій різних еколого-трофічних груп мікробних ценозів феросфери і ґрунтів

Отже, виділені в умовах руйнування підземного газопроводу з різних ґрунтів бактерії деяких еколого-трофічних груп є корозійно небезпечними і можуть бути використані як тест-культури при дослідженні процесу МІК та інгібіторів-біоцидів.

При дослідженні біоцидних властивостей діючої речовини лінуруону та сполуки I встановлено слабку дію щодо асоціації ЗВБ (табл. 2). Асоціації СВБ і ЗВБ виявились чутливими щодо сполуки II, цілеспрямовано отриманої з урахуванням раніше встановлених нами закономірностей [12]. Значення IgP (більше 5,0) засвідчує здатність речовини II адсорбуватися на поверхні бактеріальної клітини і порушувати їх метаболізм [3]. Тоді, згідно із моделлю, запропонованою у праці [2], дію біоциду можна пояснити блокуванням діяльності екзоензиму в результаті коагуляції білка або зв'язування його активних груп, що призводить до загибелі мікроорганізмів.

Проведені корозійні дослідження показали, що за наявності асоціації СВБ захисна дія речовин різнилася від такої у нейтральному стерильному середовищі (табл. 3). Діюча речовина лінуруону та його похідні зменшували швидкість корозії в нейтральному середовищі в 1,56—3,0 рази, проявляли захисний ефект

Таблиця 2
Властивості діючої речовини лінуруону (L) та його похідних (I і II)

Речовина	Діаметр зон пригнічення росту (мм) при відповідній концентрації речовини						IgP
	асоціація СВБ			асоціація ЗВБ			
	0,1 %	0,2 %	2 %	0,1 %	0,2 %	2 %	
L	—	—	—	12,1*± 1,0	12,7*± 1,2	10,3*± 0,3	3,15 ± 0,57
I	—	—	—	18,3 ± 0,9	15,3 ± 0,25	13,7 ± 0,33	5,0 ± 0,67
II	19,3 ± 1,3	21,0 ± 1,0	24,0 ± 0,6	11,3 ± 0,88	18,3 ± 0,88	27,3 ± 0,58	5,48 ± 0,67

Примітка. "—" — пригнічення росту бактерій не спостерігали.

* У зоні пригнічення росту бактерій виявляли окремі колонії.

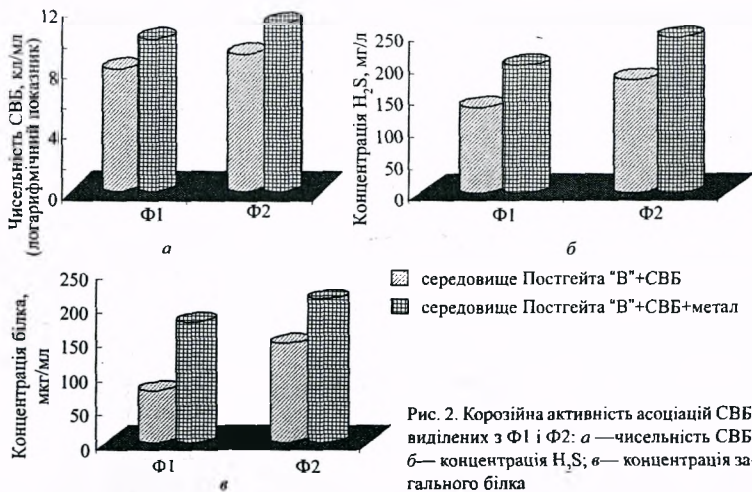


Рис. 2. Корозійна активність асоціацій СВБ, виділених з Φ1 і Φ2: а — чисельність СВБ; б — концентрація H₂S; в — концентрація загального білка

(36—67 %). Найефективнішою за цих умов була діюча речовина лінурону ($Z_m = 67\%$).

Введення в стерильне середовище Постгейта "В" асоціації СВБ збільшувало швидкість корозії сталі в 4,6 рази. Це пов'язано з впливом на корозійний процес продуктів життєдіяльності СВБ, а саме HS⁻ та H₂S, які стимулюють процес МІК [9]. У середовищі, інокульованому асоціацією СВБ, швидкість корозії сталі за наявності досліджуваних речовин зменшувалася. Діюча речовина лінурону і сполука I виявляли практично однаковий захисний ефект, який становив 44 і 43 % відповідно. Захисний ефект цих сполук за умов МІК порівняно з нейтральним середовищем зменшувався на 23 і 10 % відповідно. Сполука II виявилася малоефективним інгібітором корозії сталі у нейтральному середовищі ($Z_m = 36\%$), але вона значно зменшувала швидкість корозії за наявності асоціації СВБ і забезпечувала збільшення ступеня захисту сталі в 2,14 разів ($Z_m = 77\%$).

Критерієм ефективності інгібітору-біоциду за умов МІК є зменшення концентрації біогенного сірководню, титру корозійно небезпечних бактерій та загального вмісту білка порівняно з контролем [2, 6]. Встановлено, що досліджувані речовини за умов МІК зменшують чисельність СВБ (табл. 3). Діюча речовина лінурону і сполука II зменшують титр СВБ на 7, а речовина I на 2 порядки.

Таблиця 3
Характеристика процесу мікробної корозії сталі СтЗПС у середовищі Постгейта "В"

Речовина	Середовище Постгейта "В"			Середовище Постгейта "В", інокульоване СВБ			Концентрація H ₂ S, мг/л	Вміст білка, мкг/мл	Титр СВБ, кл/мл
	$K_m, r/(m^2 \cdot год)$	γ_m	$Z_m, \%$	$K_m, r/(m^2 \cdot год)$	γ_m	$Z_m, \%$			
Контроль	$4,9 \cdot 10^{-3}$	—	—	$2,26 \cdot 10^{-2}$	—	—	233	590	10^{11}
L	$1,64 \cdot 10^{-3}$	3,0	67	$1,26 \cdot 10^{-2}$	1,79	44	23	118	10^4
I	$2,3 \cdot 10^{-3}$	2,13	53	$1,31 \cdot 10^{-2}$	1,73	43	89	186	10^9
II	$3,14 \cdot 10^{-3}$	1,56	36	$0,53 \cdot 10^{-2}$	4,3	77	34	73	10^4

Примітка. "—" — показник не розраховувався; L — лінурон; I і II — похідні лінурону.

Уповільнення бактеріального метаболізму за наявності досліджуваних сполук підтверджується зниженням концентрації біогенного сірководню (в 2,6—10,0 разів) і загального вмісту білка (в 3,2—8,0 разів). Продуктування сірководню клітинами СВБ знизилося з 233 до 23 мг/л і 34 мг/л за наявності діючої речовини лінуруну і сполуки II відповідно. Також вони значно зменшували адгезію клітин до поверхні металу, що є важливою характеристикою інгібіторів МІК [2, 9]. Діюча речовина лінуруну максимально зменшувала продуктування сірководню бактеріями, проте вміст білка в корозійній системі за її наявності у 5 разів менший порівняно з контролем. Це засвідчує те, що є інші бактерії — супутники СВБ.

Зменшення кількості білка в 8 разів характерно для сполуки II, яка значно впливала на реакцію сульфатредукції, що покладена в основу життєдіяльності СВБ.

Отже, *N'*-(3,4-дихлорфеніл)-*N*—*n*-толіл-*N*-(6,7,8,9-тетрагідро-5*H*-[1, 2, 4] триазоло [4,3-*a*]азепін-3-ілметил)сечовина (речовина II) має біоцидні властивості щодо асоціації СВБ і ЗВБ і забезпечує ступінь захисту маловуглецевої сталі за умов МІК — 77 %.

С.В. Приходько, І.Н. Курмакова, А.П. Третяк

Черниговский государственный педагогический университет имени Т.Г. Шевченко

РАЗВИТИЕ КОРРОЗИОННОГО МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ГРУНТА В ПРИСУТСТВИИ ЛИНУРОНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ

Резюме

Показано качественное постоянство коррозионно опасного микробного сообщества, выделенного из ферросферы корродирующих подземных трубопроводов разных грунтов. Особенностью структуры сформированного коррозионно агрессивного микробного ценоза является преобладание сульфатвосстанавливающих и железовосстанавливающих бактерий. Развитие ассоциации железовосстанавливающих бактерий в присутствии действующего вещества пестицида "Линурон" и его производных угнетается. Ассоциация сульфатвосстанавливающих бактерий оказалась чувствительной только к производному, содержащему триазолоазепиновый цикл и толил.

Ключевые слова: коррозионно опасное микробное сообщество, биоциды, ингибиторы микробной коррозии, линурон.

S.V. Prikhodko, I.N. Kurmakova, A.P. Tretyak

Chernihiv Shevchenko State Pedagogical University

DEVELOPMENT OF CORROSION MICROBIAL ASSOCIATION OF SOIL IN THE PRESENCE OF LINURON AND ITS DERIVATIVES

Summary

Qualitative stability of corrosion-dangerous microbial association, extracted from ferrosphere of corroding underground pipelines in different soils is shown. Prevailing of sulphate-reducing and iron-reducing bacteria is peculiar to the structure of formed corrosion-aggressive microbial cenosis. Development of association of iron-reducing bacteria in the presence of acting matter of pesticide Linuron and its derivatives is depressed. The association of sulphate-reducing bacteria is sensitive only to the derivate that contains triazolazepine cycle and tolyl.

The paper is presented in Ukrainian.

Key words: corrosion-dangerous microbial association, biocides, inhibitors of microbial corrosion, Linuron.

The author's address: S.V. Prikhodko, Chernihiv Shevchenko State Pedagogical University 53 Getman Polubotok St., Chernihiv, 14013, Ukraine.

1. Андреев Е.И., Козлова И.А. Микробная коррозия: современное состояние проблемы и перспективы ее развития // Микробиол. журн. — 1994. — 56, № 2. — С. 28.
2. Андреев К.И., Козлова И.П., Коптсва Ж.П., Пляшенко-Новохатний А.И., Заніна В.В., Пуриш Л.М. Микробна корозія підземних споруд. — Київ: Наук. думка, 2005. — 259 с.
3. Бобкова Т.С., Злочевская И.В., Чекунова Л.Н. К проблеме поиска новых биоцидов // Микроорганизмы и низшие растения — разрушители материалов и изделий. — Москва: Наука, 1979. — 256 с.
4. Васильев В.П. Аналитическая химия. Гравиметрические и титриметрические методы анализа. — Москва: Высш. шк., 1989. — 320 с.
5. ДСТУ 3291-95. Єдина система захисту від корозії та старіння. Методи оцінки біокорозійної активності ґрунтів і виявлення наявності мікробної корозії на поверхні підземних металевих споруд. — Чинний від 01.01.97.
6. Козлова И.А., Коптсва Ж.П., Пуриш Л.М., Андреев Е.И. Микробная коррозия и защита подземных металлических сооружений // Практика противокорроз. защиты. — 1999. — 13, № 3. — С. 21—27.
7. Коррозия: Справ. издание / Под ред. Л.Л. Шрайера. — Москва: Металлургия, 1981. — 632 с.
8. Практикум по биохимии / Под ред. С.Е. Северина. — Москва: Изд-во Моск. ун-та, 1989. — 509 с.
9. 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.
10. Романенко В.И., Кузнецов С.И. Экология микроорганизмов пресных водоемов. — Ленинград: Наука, 1974. — 196 с.
11. Фокин М.Н., Жигалова К.А. Методы коррозионных испытаний металлов. — Москва: Металлургия, 1986. — 80 с.
12. Третьяк А.П., Смыкун Н.В., Приходько С.В., Макей А.П., Курмакова И.Н. Антимикробная активность некоторых производных азепина, конденсированного с триазолом и имидазолом // Вісн. Одес. нац. ун-ту. — 2001. — 6, вип. 4. — С. 313—317.
13. Hamilton W.A. Sulphate-reducing bacteria and anaerobic corrosion // Ann. Rev. Microbiol. — 1985. — 39. — P. 195—217.
14. Videla H.A. Corrosion inhibition in the presence of microbial corrosion. Paper No. 223. Corrosion 96, NACE International, Houston, TX.

Одержано 14.12.2006