

**ЧУТЛИВІСТЬ БАКТЕРІЙ КОРОЗІЙНО АКТИВНОГО
МІКРОБНОГО УГРУПОВАННЯ У СКЛАДІ БІОПЛІВКИ
ЩОДО ЧЕТВЕРТИННИХ СОЛЕЙ ТРИАЗОЛАЗЕПІНІУ**

Н. Р. Демченко, І. М. Курмакова, О. П. Третяк

Чернігівський національний педагогічний університет
імені Т. Г. Шевченка

E-mail: nata_demch@ukr.net

Провідну роль у процесі мікробної корозії сталі відіграють сульфатвідновлювальні бактерії. Встановлено, що бактерії сприяють протіканню біоелектрохімічного процесу на поверхні металу, а саме у біоплівках [6]. Вони утворюються на металевих поверхнях природних та інженерних систем, що сприяє активному перебігу мікробної корозії. Бактерії в біоплівках в 20 – 1000 разів більш стійкі до антимікробних препаратів, ніж мікроорганізми в культуральному середовищі [6]. Це обумовлено слизистим біополімерним матриксом, який продукується бактеріальними клітинами зразу після прикріплення до субстрату та слугує молекулярним ситом, яке уловлює та концентрує поживні речовини із зовнішнього середовища, а також обмежує проникнення антимікробних речовин до бактерій у біоплівці [7]. Крім того, екзополімери можуть взаємодіяти з біоцидами і, таким чином, захищати клітини в біоплівці [5]. Тому, у складі біоплівок бактерії краще функціонують навіть за присутності антибактеріальних препаратів без зміни своєї індивідуальної чутливості [3]. Інгібітор-біоцид та складові біоплівки взаємодіють між собою, що може призводити до стимулювання або пригнічення процесу корозії металу. Одним із показників такої взаємодії є чисельність бактерій корозійно активного мікробного угруповання у складі сформованої біоплівки на металевій поверхні. Нашими дослідженнями встановлено, що четвертинні солі триазолоазепінію виявляють біоцидну дію щодо корозійно активних бактерій та є ефективними інгібіторами

Фізіолого-біохімічні аспекти адаптації організмів та дослідження біорізноманіття

біокорозії маловуглецевої сталі, індукованої природним корозійно активним мікробним угрупованням, до складу якого входять сульфатвідновлювальні, залізовідновлювальні, денітрифікувальні та амоніфікувальні бактерії [2]. Але дія четвертинних солей триазолоазепінію на бактерії біоплівки потребує більш детального вивчення.

Метою нашої роботи було вивчення чутливості бактерій корозійно активного мікробного угруповання у складі сформованої біоплівки на поверхні металу щодо дії інгібіторів корозії з біоцидними властивостями – четвертинних солей триазолоазепінію.

Досліджували четвертинні солі триазолоазепінію: бромід 1-(2-оксо-2-фенілетил)-3-(4-толуїдінометил)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло-[4,5-а]азепінію (ЧСТА I) та бромід 1-[2-(4-хлорофеніл)-2-оксоетил]-3-(4-метоксианілінометил)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-1,2,4]триазоло[4,5-а]азепінію (ЧСТА II). Сформовану на поверхні сталевих зразків (сталь Ст3) біоплівку отримували, занурюючи підготовлені за загальноприйнятою методикою [4] металеві зразки в середовище Постгейта «В». Титр бактерій корозійно активного мікробного угруповання складав: сульфатвідновлювальні (СВБ) – 10^8 кл/мл, залізовідновлювальні (ЗВБ) – 10^4 кл/мл та денітрифікувальні (ДНБ) бактерії – 10^5 кл/мл. Після експозиції (14 діб) у середовищі Постгейта «В» без біоцидів зразки переносили на 168 годин ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) у теж саме середовище з додаванням інгібіторів-біоцидів ЧСТА I, ЧСТА II. Концентрація речовин складала 0,1 г/л, 1,0 г/л, 2,5 г/л. Після чого біоплівку з металеві поверхні знімали у фіксований об'єм 0,1Н фосфатного буфера (рН 7,0) за допомогою ультразвуку на приладі УЗМ-003/н за частоти 22 кГц (30 с) двічі з інтервалом 60 с. Отриману клітинну суспензію використовували для приготування розведень та визначення чисельності клітин сульфатвідновлювальних, залізовідновлювальних, та денітрифікувальних бактерій. Життєздатність клітин перевіряли висівом суспензії на елективні поживні середовища.

Встановлено, що сульфатвідновлювальні бактерії у біоплівці виявились найбільш чутливими до дії четвертинних

Фізіолого-біохімічні аспекти адаптації організмів та дослідження біорізноманіття

солей триазолоазепінію: їх чисельність зменшилась на 4 порядки (за присутності ЧСТА I) незалежно від концентрації речовини, та на 3 – 5 порядків (за присутності в середовищі ЧСТА II) зі збільшенням концентрації солі з 0,1 до 2,5 г/л. За концентрації ЧСТА I 0,5 г/л та 1,0 г/л кількість залізовідновлювальних бактерій збільшилась в порівнянні з контролем в 10 та 4,2 рази відповідно, а за концентрації 2,5 г/л зменшилась в 2,4 рази. За концентрації ЧСТА II 0,5 г/л кількість ЗВБ збільшилась в 10 разів, за концентрації 1,0 г/л залишилась такою ж як і в контролі, а за концентрації 2,5 г/л зменшилась у 10 разів. Кількість денітрифікувальних бактерій у біоплівці зменшилась за присутності ЧСТА I в 4,2 рази (концентрація 0,5 г/л та 1,0 г/л) та в 10 разів (концентрація 2,5 г/л). Вплив ЧСТА II на денітрифікувальні бактерії виявився незначним. Зменшення їх кількості в 4,2 рази спостерігалось лише за дії солі в концентрації 2,5 г/л. Збільшення чисельності залізовідновлювальних бактерій та незначне зменшення чисельності денітрифікувальних бактерій у біоплівці за дії концентрацій 0,5 г/л та 1,0 г/л можна пояснити можливістю бактерій розвивати стратегію адаптації до четвертинних солей триазолоазепінію. Вірогідно, за зазначених концентрацій сполуки дозволяють реалізувати резистентність за рахунок процесів, що відбуваються на рівні мембрани бактеріальних клітин [1]. За більш високих концентрацій (2,5 г/л) ці процеси порушуються і ріст бактерій інгібується. Денітрифікувальні бактерії проявили більшу стійкість до четвертинних солей триазолоазепінію серед бактерій угруповання біоплівки.

У складі біоплівки бактерії знаходяться у міжклітинному матриксі, який може відмежовувати клітини угруповання від впливу зовнішнього середовища. Тому подальші дослідження екзополімерного комплексу біоплівки на сталі за впливу інгібіторів біоцидів є актуальним для встановлення механізму їх дії на корозійне угруповання бактерій, розробки теоретичних та практичних підходів щодо захисту металів та підвищення біостійкості захисних покриттів.

**Фізіолого-біохімічні аспекти адаптації організмів
та дослідження біорізноманіття**

Література

1. *Громов Б. В.* Экология бактерий: учеб. пособие [для ун-тов по спец. „Микробиология”] / Б. В. Громов, Г. В. Павленко. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1989. — 246, [2] с.
2. *Демченко Н. Р.* Біоцидна дія четвертинних триазолоазепінієвих солей на корозійно небезпечні мікробні угруповання / Н. Р. Демченко, І. М. Курмакова, О. П. Третяк // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія: біологія. — 2007. — Вип. 20. — С. 18—21.
3. *Ильина Т. С.* Биопленки бактерий как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития / Т. С. Ильина, Ю. М. Романова, А. Т. Гинцбург // Генетика. — 2004. — 40, № 11. — С. 1145—1156.
4. *Коррозия: справочник* / [Чендлер К. А., Хадсон Дж. К., Степнерс Дж. Р. и др.]; под ред. Л. Л. Шрайера ; сокр. пер с англ. В. С. Синявского. — М.: Металлургия, 1981. — 630, [1] с.
5. *Пуриш Л.* Вплив інгібітору на формування біоплівки на поверхні сталі та структуру екзополімерного комплексу / Л. Пуриш, Л. Асауленко, І. Козлова // Фізико-хімічна механіка матеріалів. — 2010. — Спец. вип. № 8. — С. 434—438.
6. *Broun M. R. W.* Sensitivity of biofilms to antimicrobial agents. / M. R. W. Broun, P. Gilbert // J. Appl. Bacteriol. — 1993. — S. 74. — P. 87—97.
7. *Gander S.* Bacterial biofilms: resistance to antimicrobial agents. / S. Gander // J. Antimicrob. Chemother. — 1996. — 37. — P. 1047—1050.