

## ЕКОЛОГІЯ

УДК 620.197.3:546.32+620.193.8:579.83/.84

ВЕМБЕР В. В., к.б.н., доц.; НОСАЧОВА Ю. В., к.т.н., доц.

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

### ВПЛИВ ЙОНІВ ПЕРЕХІДНИХ d-МЕТАЛІВ НА ДИНАМІКУ ВИЖИВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ В ПРИСУТНОСТІ ФОСФОНОВИХ КИСЛОТ

У роботі досліджено вплив йонів перехідних d-металів на динаміку виживання мікроорганізмів в присутності фосфонових кислот. Результати проведених досліджень продемонстрували можливість йонів перехідних металів виступати в якості регуляторів та модифікаторів ростових процесів мікроорганізмів, які знаходяться в умовах осмотичного стресу та голодування. Встановлено, що представники досліджених груп мікроорганізмів виявляють різний рівень стійкості до присутності в модельному середовищі фосфонових кислот та йонів  $Zn^{2+}$  та  $Cr^{3+}$  у концентрації  $5 \text{ мг/дм}^3$ . Найбільші зміни у динаміці виживання мікробних клітин спостерігались при додаванні до середовища культивування йонів хрому, що виражалось у зменшенні відсотка життєздатних клітин *Bacillus sp.* (до 24 %) та суттєвому збільшенні виживання серед клітин *Pseudomonas sp.* (до 78 % у порівнянні з середовищем без додавання йонів металу). Отримані результати свідчать про доцільність врахування можливості існування мікробіологічного забруднення в замкнених та оборотних системах охолодження та водопостачання з огляду на вплив мікробних клітин на процеси корозії, які там відбуваються.

**Ключові слова:** йони перехідних d-металів, фосфонові кислоти, мікроорганізми, динаміка виживання, замкнуті водоциркуляційні системи.

DOI: 10.20535/2306-1626.1.2018.143384

© Вембер В. В., Носачова Ю. В., 2018.

**Постановка проблеми.** На сьогодні накопичено великий обсяг фактичного матеріалу відносно стійкості того чи іншого, як правило, патогенного мікроорганізму, до певного металу в йонній формі [1-2]. Ця проблема є актуальною, оскільки негативний вплив металів на ростові процеси мікроорганізмів спостерігається як в природі (води та ґрунти можуть містити йони металів в інгібуючих кількостях), так і в ході різноманітних технологічних процесів (металева апаратура може стати джерелом підвищеного вмісту металів, особливо при низьких значеннях рН). В деяких випадках йони металів можуть використовуватись в якості інгібіторів корозії в замкнених та оборотних системах водопостачання.

Виходячи з отриманих нами раніше результатів, в яких мікроорганізми продемонстрували здатність активно впливати на процеси корозії, модифікуючи протикорозійний ефект йонів важких металів та змінюючи навіть напрямок протікання корозійних процесів в динаміці [3], постає питання щодо можливості їхнього виживання в оборотних замкнених системах водопостачання в присутності речовин, що використовуються в якості інгібіторів корозії.

Тому метою даної роботи стало вивчення впливу йонів перехідних d-металів ( $Zn^{2+}$  та  $Cr^{3+}$ ) на динаміку виживання мікроорганізмів в присутності відомих антискалантів – оксиетилендифосфонові кислоти (ОЕДФК) та нітрилотриметилфосфонові кислоти (НТМФК), оскільки в наших попередніх дослідженнях показаний високий ступінь захисту від корозії за використання даних композицій [4].

**Аналіз попередніх досліджень.** З усіх методів боротьби з корозією та солевідкладанням найбільш перспективним є хімічний метод обробки води – введення в середовище незначних добавок хімічних сполук – інгібіторів корозії [5].

До недавнього часу в якості інгібіторів корозії та компонентів композицій реагентної обробки оборотних водних систем застосовувалися в основному неорганічні сполуки: хромати, ортофосфати, нітрити, ортосилікати – анодні інгібітори; поліфосфати, цинк, молібдати, полісилікати – катодні інгібітори. Але дослідження останніх років виявили більш високу ефективність органічних інгібіторів щодо корозійних процесів, оскільки останні демонструють більшу надійність для систем водопостачання при постійній зміні багатьох агресивних факторів [5-9].

Результати наших попередніх досліджень продемонстрували ефективність протикорозійного захисту обладнання за умови використання сполук, які містять йони перехідних металів, що дає змогу

використовувати їх в замкнених системах водопостачання [4, 10]. З урахуванням агресивної дії та особливостей систем водопостачання постійно розроблюється велика кількість органічних інгібіторів, представників різних класів сполук. Найбільш ефективними серед них є комплекси, які містять в якості комплексоутворюючої групи фосфонову  $\text{PO}(\text{OH})_2$ : 1-оксиетилендифосфонову кислоту (ОЕДФК); нітрилотриметилфосфонову кислоту (НТМФК) [5, 8, 9].

Але в більшості подібних досліджень не враховується можливість існування у водоциркуляційних системах мікробних клітин. Оскільки корозія металів – складний процес, який може бути суттєво модифікований впливом різних чинників, в тому числі і мікроорганізмів, метою даної роботи було дослідження протікання корозійних процесів в модельній системі, яка поряд з іонами металів-інгібіторів корозії в композиції з фосфоновими кислотами містила стандартизовану клітинну суспензію мікроорганізмів.

Для дослідження впливу мікроорганізмів на проходження процесу корозії нами було обрано мікроорганізми різної систематичної приналежності, що відносяться до різних фізіологічних груп та мають протилежні типи життєвих стратегій, а отже - значно відрізняються стосовно можливостей виживання в умовах впливу факторів, що можуть існувати в замкнених системах водоспоживання (різких температурних змін, кисневого голодування, наявності токсичних речовин, що додаються для кондиціонування води): *Bacillus sp.* та *Pseudomonas sp.*

Оскільки мікроорганізми продемонстрували здатність активно впливати на процеси корозії, постало питання можливості їхнього виживання в замкнених та оборотних системах водопостачання в присутності речовин, що використовуються в якості інгібіторів корозії.

**Методика роботи.** Для досліджень нами було обрано мікроорганізми різної систематичної приналежності, що відносяться до різних фізіологічних груп та мають протилежні типи життєвих стратегій, а отже – значно відрізняються стосовно можливостей виживання в умовах впливу факторів, що можуть існувати в замкнених системах водоспоживання (різких температурних змін, кисневого голодування, наявності токсичних речовин, що додаються для кондиціонування води): *Bacillus sp.* та *Pseudomonas sp.*

*Bacillus* – рід паличковидних грам-позитивних бактерій. Види *Bacillus* є облигатними або факультативними аеробами. Усюдиусі в природі, за несприятливих умов клітини виробляють овальні ендоспори, які можуть залишитися бездіяльними протягом тривалого періоду, що значно підвищує стійкість представників даного роду до різноманітних факторів.

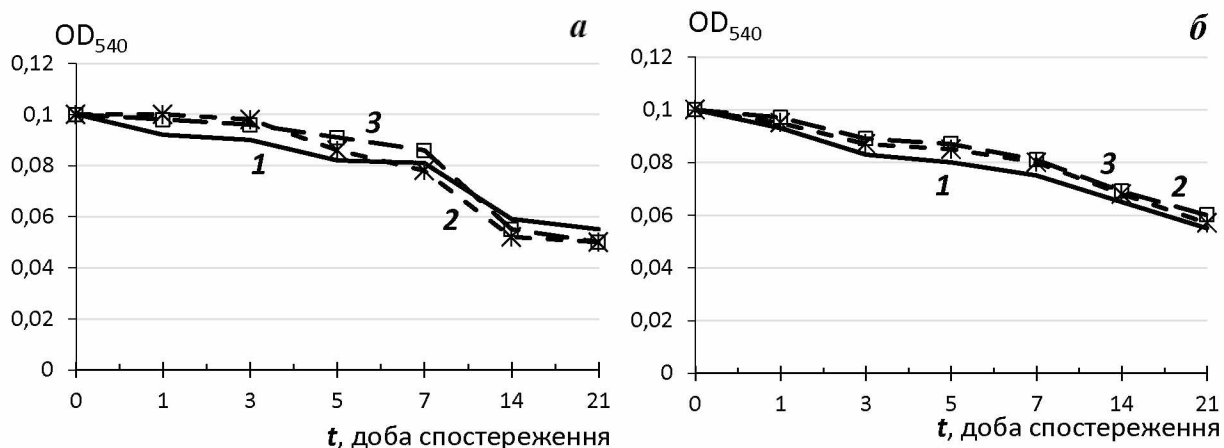
*Pseudomonas* – рід паличковидних грам-негативних бактерій. Використовують кисень як кінцевий акцептор електронів. У деяких випадках альтернативним акцептором електронів може слугувати нітрат, що забезпечує анаеробний ріст. Зазвичай хемоорганотрофи (деякі види - факультативні автотрофи, які як джерело енергії здатні використовувати  $\text{H}_2$  або  $\text{CO}$ ). Більшість мають один або кілька джгутиків і тому описуються як рухомі (здатні пересуватися місця на місце). Багато з них можуть виробляти екзополісахариди, що сприяє колонізації поверхонь в вигляді біоплівки, які важко видалити з поверхонь. *Pseudomonas* мають здатність метаболізувати різноманітні живильні речовини. Комбінуючи це із здатністю формувати біоплівки, вони можуть виживати в різноманітних, несприятливих для зростання інших видів бактерій, місцях. Здатність процвітати в жорстких умовах - результат структури їх клітинної стінки, яка містить поріни.

Мікроорганізми культивували на загальноживаних агаризованих середовищах, після чого готували клітинну суспензію. Стандартизацію клітинної суспензії проводили спектрофотометричним методом, доводячи кількість засівного матеріалу у модельному середовищі до оптичної густини  $\text{OD}_{540} = 0,100$ .

Вплив мікроорганізмів на процеси корозії вивчали в стаціонарних біореакторах об'ємом по 125 мл. В якості інкубаційного середовища використовували розчин 0,1% NaCl, до якого додавали сіль одного з перехідних *d*-металів ( $\text{Zn}^{2+}$  або  $\text{Cr}^{3+}$ ) в комбінації з 1-оксиетилендифосфоровою (ОЕДФК) або нітрилотриметилфосфоровою (НТМФК) кислотами. Обидва компоненти протикорозійної композиції додавали у концентрації 5 мг/дм<sup>3</sup>. Тривалість експозиції модельної води з клітинами мікроорганізмів складала 3 тижні. Рістові процеси та динаміку виживання мікроорганізмів оцінювали спектрофотометричним методом за зміною оптичної густини клітинної суспензії при  $\lambda=540$  нм.

**Виклад основного матеріалу.** На першому етапі досліджень нами було отримано криві динаміки відмирання мікробних клітин в осмотично несприятливому для них середовищі: 0,1% розчині NaCl без додавання органічних речовин. Потрібно відзначити, що динаміка відмирання клітин бактерій обох видів носила майже лінійний характер та не виявила суттєвої видової різниці. Такий ефект може бути наслідком загибелі клітин внаслідок відсутності в модельному середовищі поживних елементів, або недостатньої

кількості осмотично-активних компонентів. Додавання до середовища культивування фосфонових кислот у концентрації 5 мг/дм<sup>3</sup> не призвело до статистично достовірних змін в отриманих залежностях (рис. 1).



(а) бактерії роду *Bacillus*; (б) бактерії роду *Pseudomonas*

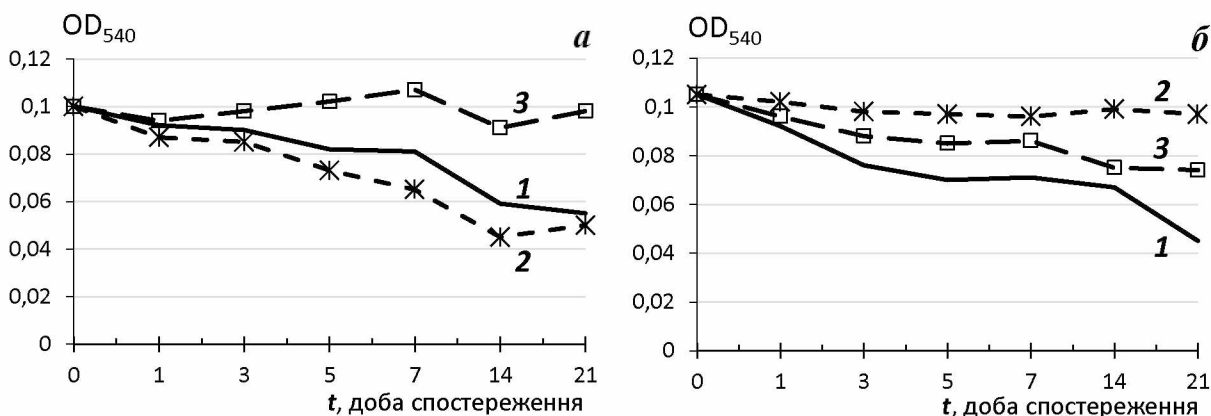
Середовище культивування бактерій: (1) 0,1% розчин NaCl (контроль); (2) 0,1% NaCl+ОЕДФК; (3) 0,1% NaCl+НТМФК

Рис. 1 – Кінетика виживання бактерій в присутності фосфонових кислот

На наступному етапі нами було проаналізовано вплив іонів перехідних *d*-металів на динаміку виживання мікроорганізмів, який виявив суттєві відмінності між вивченими видами бактерій.

Так, додавання до середовища культивування іонів цинку на 14 добу спостереження призводило до зменшення відсотку загиблих клітин роду *Bacillus* на 12% (рис. 2, а), а для роду *Pseudomonas* даний показник зменшився на 54% (рис. 2, б).

Але найбільші зміни у динаміці виживання мікробних клітин спостерігались при додаванні до середовища культивування іонів хрому, які чинили різноспрямований вплив на досліджені культури мікроорганізмів: на 14 добу експозиції кількість живих клітин *Bacillus sp.* в модельній воді зменшувалось на 24%, а відсоток виживання клітин *Pseudomonas sp.* у порівнянні з середовищем без додавання іонів металу, навпаки, зростає, досягаючи 148% (рис. 2).



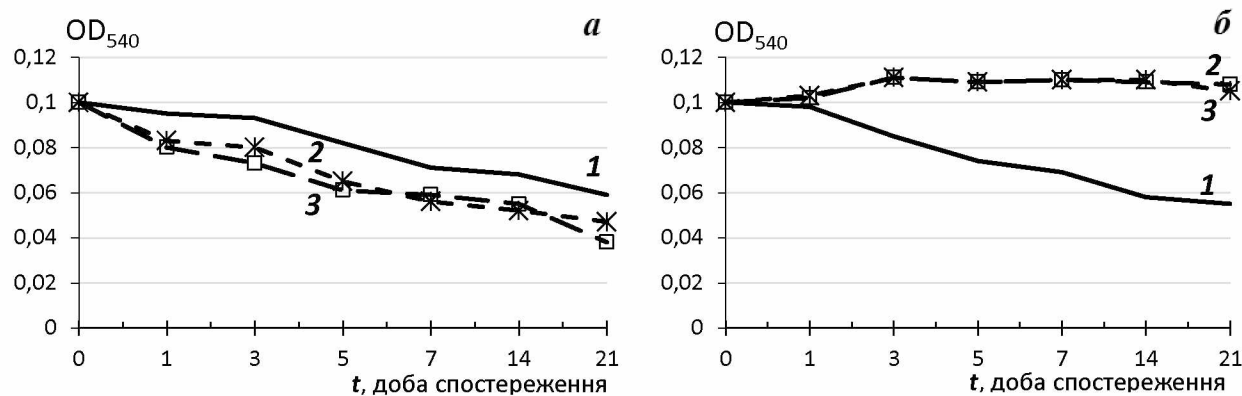
(а) бактерії роду *Bacillus*; (б) бактерії роду *Pseudomonas*

Середовище культивування бактерій: (1) 0,1% розчин NaCl (контроль); (2) 0,1% NaCl+Cr<sup>3+</sup>; (3) 0,1% NaCl+Zn<sup>2+</sup>

Рис. 2 – Кінетика виживання бактерій в присутності іонів металів

При одночасному додаванні до середовища культивування фосфонових кислот та іонів перехідних *d*-металів у концентрації 5 мг/дм<sup>3</sup> зафіксовано принципову різницю в реакції клітин мікроорганізмів. Бактерії роду *Bacillus* реагували на введення подібної композиції або незначним зниженням відсотку життєздатних клітин (рис. 3, *a*), або відсутністю різниці між виживанням в середовищі 0,1 %-го NaCl та того ж середовища з композицією фосфонових кислот та іонів металів (рис. 4, *a*).

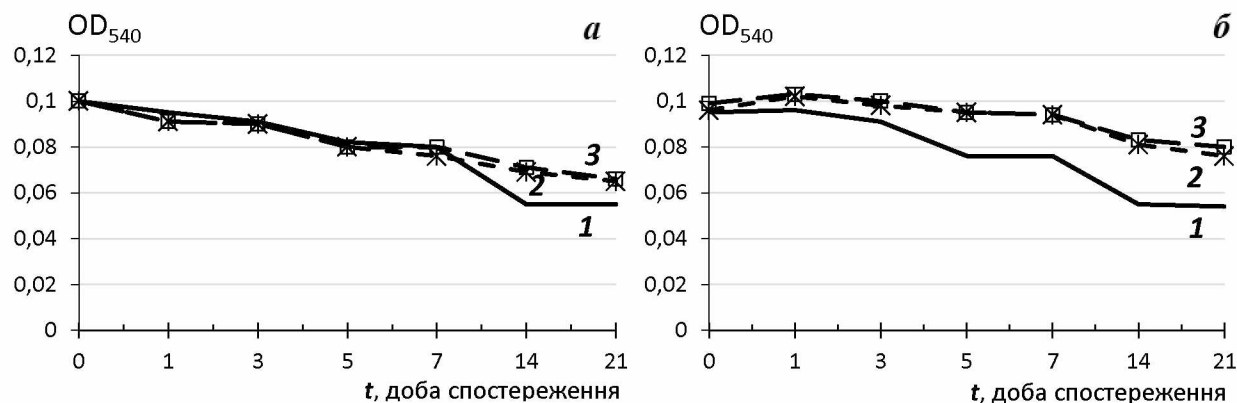
Для бактерій роду *Pseudomonas* наявність в середовищі інкубації композиції з фосфонових кислот та іонів перехідних *d*-металів призводила до значного підвищення рівня виживання клітин у модельній воді (рис. 3-4, *б*). Найбільш значущий рівень виживання бактерій *Pseudomonas sp.* спостерігався при додаванні іонів Cr<sup>3+</sup> в композиції з фосфоновими кислотами, коли рівень виживання мікроорганізмів збільшувався у порівнянні з модельним середовищем без додавання іонів металу майже на 90% (рис. 3, *a*). Для іонів цинку даний показник був нижчим і складав 47-51% для ОЕДФК та НТМФК відповідно (рис. 3, *б*).



(*a*) бактерії роду *Bacillus*; (*б*) бактерії роду *Pseudomonas*

Середовище культивування бактерій: (1) 0,1% розчин NaCl (контроль); (2) 0,1% NaCl+ОЕДФК+Cr<sup>3+</sup>; (3) 0,1% NaCl+НТМФК+Cr<sup>3+</sup>

Рис. 3 – Кінетика виживання бактерій в присутності іонів хрому та фосфонових кислот



(*a*) бактерії роду *Bacillus*; (*б*) бактерії роду *Pseudomonas*

Середовище культивування бактерій: (1) 0,1% розчин NaCl (контроль); (2) 0,1% NaCl+ОЕДФК+ Zn<sup>2+</sup>; (3) 0,1% NaCl+НТМФК+ Zn<sup>2+</sup>

Рис. 4 – Кінетика виживання бактерій в присутності іонів цинку та фосфонових кислот

**Висновки.** В результаті дослідження впливу іонів перехідних *d*-металів (Zn<sup>2+</sup> та Cr<sup>3+</sup>) на динаміку виживання мікроорганізмів *Bacillus sp.* та *Pseudomonas sp.* в присутності фосфонових кислот (оксигетилдифосфонової кислоти (ОЕДФК) та нітрлотриметилфосфонової кислоти (НТМФК)),

зафіксовано суттєву різницю у реакції мікроорганізмів на присутність у модельному середовищі іонів металів.

Найбільші зміни у динаміці виживання мікробних клітин спостерігались при додаванні до середовища культивування іонів хрому, що виражалося у зменшенні відсотка життєздатних клітин *Bacillus sp.* (до 24%) та суттєвому збільшенні виживання серед клітин *Pseudomonas sp.* (до 78% у порівнянні з середовищем без додавання іонів металу).

Результати проведених досліджень продемонстрували можливість іонів перехідних металів виступати в якості регуляторів та модифікаторів ростових процесів мікроорганізмів, які знаходяться в умовах осмотичного стресу та голодування.

Також необхідно враховувати можливість існування мікробіологічного забруднення в оборотних системах водопостачання з огляду на вплив мікробних клітин, певна кількість яких завжди присутня в водному середовищі, не лише на якість води, але і на процеси корозії, які там відбуваються.

#### **Список використаних джерел**

1. *Vauda P.* Metals and Microorganisms: Relationships and Applications // FEMS Microbiol. Rev. – 1994. – 14. – P. 138.
2. *Бингам Ф. Т., Перья Ф. Д., Джерелл У. М.* Некоторые вопросы токсичности ионов металлов / Под ред. Х. Зигеля, А. М. Зигель. – М.: Мир, 1993. – 230 с.
3. *Вембер В. В., Носачова Ю. В.* Вплив мікроорганізмів на протікання процесу корозії у нейтральному водному середовищі в присутності іонів перехідних металів // Матеріали XII Міжнародної науково-технічної конференції «Проблеми екології та енергозбереження в суднобудуванні» (22-24 вересня 2017 р., м. Миколаїв, Україна). – Миколаїв: НУК, 2017. – С. 71-74.
4. *Shabliy T., Nosachova J., Radovenchik Y., Vember V.* Study of effectiveness of heavy metals ions as the inhibitors of steel corrosion // Eastern-European Journal of Enterprise Technologies. – 2017. – 4/12 (88). – P. 10-16.
5. *Гомеля М. Д., Носачова Ю. В.* Створення добавок для забезпечення ресурсозбереження в системах охолодження // Наукові вісті НТУУ. – 2004. – №5. – С. 101 – 105.
6. *Shaban H. I.* Corrosion inhibition in a cool-water system // Coros. Prev. and Contr.–1992.–V. 39, № 1.–P. 9–12.
7. *Тыр С. Г., Бобошко З. А., Глушко И. Д.* Оценка эффективности ингибиторов в средах оборотного водоснабжения // Защита мет.–1993.–Т. 29, № 1.–С. 158–160.
8. *Кузнецов Ю. И.* Механизм действия комплексонатных ингибиторов коррозии металлов // Коррозия и защита мет. Тез. докл. 12 Пермь, окт., 1990.–С. 101.
9. *Кузнецов Ю. И., Трунов Е. А., Розенфельд И. Л.* Исследование фосфорсодержащих соединений в качестве ингибиторов коррозии металлов в системах промышленного водоснабжения // Коррозия и защита в нефтегазовой промышленности.–М. 1980.–№ 7.–С. 5–7.
10. *Носачова Ю.В., Вембер В.В.* Сповільнення корозії елементів обладнання йонами важких металів // Матеріали XII Міжнародної науково-технічної конференції «Проблеми екології та енергозбереження в суднобудуванні» (22-24 вересня 2017 р., м. Миколаїв, Україна). – Миколаїв: НУК, 2017. – С. 109-112.

Надійшла до редакції 12.06.2018

---

*Vember V. V., Nosachova Yu. V.*

#### **EFFECT OF IONS OF TRANSITIONAL d-METALS ON THE DYNAMICS OF MICROORGANISM SURVIVAL IN THE PRESENCE OF PHOSPHONIC ACIDS**

*Metal corrosion is a complex process that can be substantially modified by the influence of various factors, including the presence of microorganisms in water-circulation systems. Proceeding from the above, in this work the effect of ions of transitional d-metals on the dynamics of microorganism survival was studied in the presence of well-known antisludge agents - oxyethylenediophosphonic acid (OEDFA) and nitrilotrimethylphosphonic acid (NTMFA). Microorganisms of the various systematic groups belonging also to the different physiological groups and having opposite types of life strategies have been selected for our researching: Bacillus sp. and Pseudomonas sp. They differ significantly in terms of survival opportunities under the influence of factors that can exist in closed water consumption systems (sudden temperature changes, oxygen starvation, the presence of toxic substances added to water for its conditioning). The influence of microorganisms on corrosion processes was studied in the*

stationary bioreactors in a volume of 125 ml. A solution of 0.1% NaCl was used as a model environment, to which corrosion inhibitors - d-metals ( $Zn^{2+}$  and  $Cr^{3+}$ ) and phosphonic acids (OEDFA and NTMFA) in concentration of 5 mg/dm<sup>3</sup> had been adding.

The results of our research have shown the possibility of transition metal ions act as regulators and modifiers of growth processes of microorganisms that are under conditions of osmotic stress and fasting. Representatives of the studied groups of the microorganisms demonstrated a different level of resistance to the presence of phosphonic acids and  $Zn^{2+}$  and  $Cr^{3+}$  ions at a concentration of 5 mg/dm<sup>3</sup> in the model solution.

So, in case of cultivating microbial cells in an osmotically unfavorable environment for them (0.1% NaCl solution without the addition of organic substances), almost linear dynamics of the dying out of bacterial cells of both species was observed without manifestations of significant difference. A similar effect may be due to the absence of nutrient elements in the model solution or the lack of osmotic-active components. Adding to the cultivation medium of phosphonic acids at a concentration of 5 mg/dm<sup>3</sup> did not lead to statistically significant changes in the obtained dependencies.

The greatest changes in the dynamics of microbial cell survival were observed when chromium ions were added to the cultivation medium, which was expressed as a decrease in the percentage of viable cells of *Bacillus* sp. (up to 24%) and a significant increase in survival among *Pseudomonas* sp. (up to 78%) compared to the survival without the addition of metal ions. The obtained results indicate the expediency of taking into account the possibility of the existence of microbiological contamination in reversible water supply systems in view of the influence of microbial cells on the processes of corrosion that occur there.

**Key words:** ions of transient d-metals, phosphonic acids, microorganisms, survival dynamics, closed water supply systems.

## References

1. Bauda P. Metals and Microorganisms: Relationships and Applications // FEMS Microbiol. Rev. – 1994. – 14. – P. 138.
2. Byngnam F. T., Perj'a F. D., Dzherell U. M. Nekotorye voprosy toksychnosti yonov metallov [Some issues of toxicity of metal ions] / Ed. by: Kh. Zyghelja, A. M. Zyghelj – M.: Myr, 1993. – 230 p.
3. Vember V. V., Nosachova Ju. V. Vplyv mikroorghanizmiv na protikannja procesu koroziji u nejtralnomu vodnomu seredovyshhi v prysutnosti ioniv perekhidnykh metaliv [Influence of microorganisms on the process of corrosion in a neutral aquatic environment in the presence of transition metal ions] // Materialy XII Mizhnarodnoji naukovu-tekhnichnoji konferenciji «Problemy ekologhiji ta energhozberezhennja v sudnobuduvanni» (22-24 September 2017, Mykolayiv, Ukraine). – Mykolayiv: NUOS, 2017. – P. 71-74.
4. Shabliy T., Nosachova J., Radovenchik Y., Vember V. Study of effectiveness of heavy metals ions as the inhibitors of steel corrosion // Eastern-European Journal of Enterprise Technologies. – 2017. – 4/12 (88). – P. 10-16.
5. Ghomelja M. D., Nosachova Ju. V. Stvorennja dobavok dlja zabezpechennja resursozberezhennja v systemakh okholodzhennja [Creation of supplements for maintenance of resource saving in cooling systems] // Naukovi Visti NTUU. – 2004. – N 5. – P. 101-105.
6. Shaban H. I. Corrosion inhibition in a cool-water system // Coros. Prev. and Contr. – 1992. – V. 39, № 1. – P. 9-12.
7. Tyr S. Gh., Boboshko Z. A., Ghlushko Y. D. Ocenka efektyvnosti ynghybytorov v sredakh oborotnogo vodospabzhenija [Evaluation of the effectiveness of inhibitors in circulating water] // Zashhyta met. – 1993. – V. 29, N 1. – P. 158-160.
8. Kuznecov Ju. Y. Mekhanyzm dejstvija kompleksnatnykh ynghybytorov korroziji metallov [Mechanism of action of complex metal corrosion inhibitors] // Korrozija y zashhyta met. Tez. dokl. (12 Oktober, 1990, Perm), 1990. – P. 101.
9. Kuznecov Ju. Y., Trunov E. A., Rozenfeljd Y. L. Yssledovanye fosforsoderzhashhykh soedynenyj v kachestve ynghybytorov korroziji metallov v systemakh promyshlennogo vodospabzhenija [Investigation of phosphorus-containing compounds as inhibitors of metal corrosion in industrial water supply systems] // Korrozija y zashhyta v nefteghazovoj promyshlennosti. – M. 1980. – N 7. – P. 5-7.
10. Nosachova Ju. V., Vember V. V. Spoviljennja koroziji elementiv obladnannja jonamy vazhkykh metaliv [Slow down of corrosion of equipment elements by heavy metal ions] // Materialy XII Mizhnarodnoji naukovu-tekhnichnoji konferenciji «Problemy ekologhiji ta energhozberezhennja v sudnobuduvanni» (22-24 September 2017, Mykolayiv, Ukraine), Mykolayiv: NUOS, 2017. – P. 109-112.