

Наталія ДЕМЧЕНКО, Світлана ТКАЧЕНКО, Марія ЛІФАР, Олександр ТРЕТЯК

ПРОТИКОРОЗІЙНІ ТА БІОЦИДНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ ІМІДАЗОПІРИДИНІЮ

*Національний університет "Чернігівський колегіум" імені Т.Г. Шевченка
вул. Гетьмана Полуботка, 53, м. Чернігів, 14013
E-mail: nata_demch@ukr.net*

Nataliya DEMCHENKO, Svetlana TKACHENKO, Mariia LIFAR, Oleksandr TRETIK

ANTICORROSSIVE AND BIOCIDAL PROPERTIES OF THE IMIDAZOPYRIDINE DERIVATIVES

*T.H.Shevchenko National University "Chernihiv Collegium"
53, Hetmana Polubotka Str., Chernihiv, 14013, Ukraine
E-mail: nata_demch@ukr.net*

ABSTRACT

Inhibitors-biocides decelerate the process of microbial steel corrosion, but their efficiency can vary considerably depending on the physiological and biochemical characteristics of the bacteria strain. Among the heterocyclic compounds with the quaternary nitrogen there are promising inhibitors of the corrosion, induced by sulfate-reducing bacteria.

This paper deals with the peculiarities of steel St3ps corrosion in the presence of mono- (sulfate-reducing bacteria strains *Desulfovibrio* sp. M-4.1 and *Desulfomicrobium* sp. TC 4) and mixed cultures (*Desulfomicrobium* sp. TC 4 : *Desulfovibrio* sp. M-4.1 in the ratio 50% : 50%; 70% : 30%; 30% : 70% correspondingly). It has been established that the presence of *Desulfovibrio* sp.M-4.1 strain in the composition of the mixed culture makes the medium more corrosive towards the metal.

It has been defined that the studied imidazopyridine derivatives demonstrate biocidal properties against the sulfate-reducing bacteria of *Desulfovibrio* sp. M-4.1 and *Desulfomicrobium* sp. TC 4 strains, which grow in number with the increase of the substance concentration. The imidazopyridine derivative with the electron acceptor Br-substitute in *para*-position of benzene ring shows more pronounced toxic effect.

The inhibition activity ($Z_m = 72,2 - 90,2$ %) for the number of imidazopyridine derivatives under the microbial steel St3ps corrosion has been calculated. It has also been discovered that the studied bacteria of the strains react differently when the substance is added.

Imidazopyridine derivatives are promising for the steel corrosion inhibition in the media with the sulfate-reducing bacteria of *Desulfovibrio* and *Desulfomicrobium* strains. Anticorrosive and biocidal properties of the imidazopyridine derivatives have been explained considering the structure of the molecules.

KEY WORDS: *strains of sulphate-reducing bacteria Desulfovibrio sp.M-4.1 and Desulfomicrobium sp. TC 4, microbial corrosion of steel, derivatives of imidazopyridine, biocides, inhibitors.*

У природних середовищах (грунти, води) за дії антропогенного навантаження створюються сприятливі умови для формування агресивного мікробного угруповання, що індукує процес руйнування металів. Переважальною групою тут є сульфатвідновлювальні бактерії – продуценти сірководню [1]. Між компонентами мікробного угруповання встановлюються різного рівня метаболічні взаємовідносини, що впливає на формування корозійної активності біоценозу. Одним із факторів, що визначає ефективність інгібіторів-біоцидів є склад мікробного середовища. Це необхідно враховувати під час пошуку інгібіторів мікробної сталі з біоцидною дією щодо сульфатвідновлювальних бактерій.

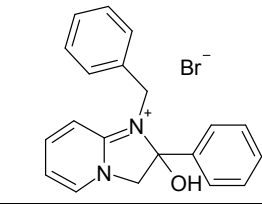
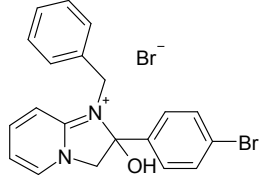
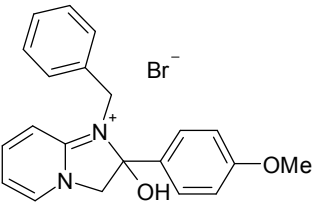
Мета роботи – дослідити особливості мікробної корозії сталі, індукованої моно- та змішаними культурами сульфатвідновлювальних бактерій; вивчити біоцидні та протикорозійні

властивості нових похідних імідазопіридинію (гетероциклічні сполуки з четвертинним азотом) за умов мікробної корозії сталі.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В якості біоцидів щодо сульфатвідновлювальних бактерій (СВБ) різних штамів та інгібіторів мікробної корозії сталі вивчали похідні імідазопіридинію, що містять четвертинний азот (ЧСП) (табл. 1). Речовини надані для дослідження проф. кафедри хімії НУЧК імені Т.Г. Шевченка д. фарм.н. Демченком А.М.

Таблиця 1. Броміди 1-бензил-2-гідрокси-2арил-2,3-дигідроімідазо [1,2-а] піридинію
Table 1. 1-benzyl-2-hydroxy-2aryl-2,3-dehydroimidazo[1,2-a] pyridine bromides

Умовне позначення	Формула	M, g/mol	lg P
ЧСП I		383,3	4,79
ЧСП II		462,2	5,62
ЧСП III		413,3	5,69

Дослідження виконували гравіметричним і мікробіологічними методами.

Гравіметричні корозивні дослідження здійснювали в герметичних ємностях зі зразками 19 см² маловуглецевої сталі СтЗпс (широко використовують у конструкціях, що експлуатують за умов, сприятливих для функціонування СВБ) у стерильному поживному середовищі Постгейта «В», інокульованому моно- та змішаними культурами сульфатвідновлювальних бактерій.

Як монокультури досліджували сульфатвідновлювальні бактерії штамів *Desulfovibrio* sp. M-4.1 та *Desulfomicrobium* sp. TC 4. Штам *Desulfovibrio* sp. M-4.1, виділено нами із сульфідогенного природного угруповання феросфери та ідентифіковано молекулярно-біологічними методами [2]. Штам *Desulfomicrobium* sp. TC 4, який виділено із продуктів корозії обростань латунних трубок водогону теплових мереж, взято з колекції відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України [3].

Суміш культур *Desulfomicrobium* sp. TC 4 та *Desulfovibrio* sp. M-4.1 взято у співвідношенні 50 % : 50 %; 70 % : 30 %; 30 % : 70 % відповідно. Титр СВБ в інокуляті – 10⁶...10⁸ кл/мл. Концентрація інгібіторів складала 1,0 г/л; час експозиції 240 та 336 h за температури 301 К.

Перед дослідом зразки знежирювали ацетоном і активували (занурення на 20 s у 6 N розчин H₂SO₄), після досліду обробляли механічно та хімічно для видалення продуктів корозії з їх поверхні. За втратою маси зразків розраховували швидкість корозії (K_m, г/(м² × h)), коефіцієнт гальмування корозивного процесу (γ_m=K_m/K_m'), де K_m та K_m' – швидкість корозії

зразків без та за присутності інгібітору) та ступінь захисту металу від корозії ($Z_m = (1 - 1/\gamma_m) \times 100\%$).

Під час дослідження мікробної корозії сталі також оцінювали чисельність сульфатвідновлювальних бактерій у планктоні та біоплівці (метод граничних десятикратних розведень [4]), концентрацію H_2S (метод йодометричного титрування). Під час виконання експерименту дотримувались способи зберігання сірководню: мінімальний час взяття проби, герметично закриті корки, перед відбором проби струшування та перемішування стерильною піпеткою. Відносний ступінь впливу солей на сульфатредукцію бактерій розраховували за формулою: $S = ((C - C')/C) \times 100\%$, де S – відносний ступінь впливу речовини на сульфатредукцію; C' та C – середня концентрація сірководню у досліджуваній і контрольній пробі відповідно, mg/l.

Біоцидні властивості речовин визначали методом лунок, до яких вносили спиртові розчини досліджуваних солей концентрацією 0,25 %, 0,5 % та 1,0 % [4]. За діаметром зони затримки росту сульфатвідновлювальних бактерій визначали їхню чутливість до похідних імідазопіридинію.

Показник ліпофільності (lgP) розраховували з використанням комп'ютерної ACD Log P:Version 1.0.

Статистичне опрацювання результатів експерименту здійснено для рівня значущості 0,05 з врахуванням нормального t-розподілення; повторність дослідів триразова. Відносна похибка не перевищувала 10%.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Досліджені четвертинні солі імідазопіридинію (ЧСП I – ЧСП III) проявляють біоцидні властивості щодо монокультур сульфатвідновлювальних бактерій родів *Desulfomicrobium* і *Desulfovibrio* та змішаної культури (*Desulfomicrobium* sp. TC 4: *Desulfovibrio* sp. M-4.1 (50 % : 50 %)), які зростають при збільшенні концентрації речовин (табл. 2). При цьому чутливішим до дії ЧСП виявився штам *Desulfovibrio* sp. M-4.1: діаметр зон пригнічення росту бактерій становив 24...35 mm за концентрації речовин 1,0 %. Більш виражену біоцидну дію щодо моно- та змішаних культур сульфатвідновлювальних бактерій виявляє похідне імідазопіридинію з електроноакцепторним Br- замісником в *para*- положенні бензенового кільця (ЧСП II) (за концентрації речовин 1,0 % діаметр зон інгібування росту бактерій моно- та змішаної культури становить до 35 mm та 28 mm відповідно).

Таблиця 2. Біоцидні властивості похідних імідазопіридинію щодо штамів сульфатвідновлювальних бактерій

Table 2. Biocidal properties of imidazopyridine derivatives towards the strains of sulfate-reducing bacteria

Умовне позначення	Діаметр зон пригнічення росту (mm) за відповідної концентрації речовин								
	<i>Desulfomicrobium</i> sp. TC 4			<i>Desulfovibrio</i> sp. M-4.1			<i>Desulfomicrobium</i> sp. TC 4 : <i>Desulfovibrio</i> sp. M-4.1 (50%:50%)		
	0,25 %	0,5 %	1,0%	0,25 %	0,5 %	1,0 %	0,25 %	0,5 %	1,0%
ЧСП I	12,0±0,7	15,0±0,9	22,0±0,7	12,0±0,9	20,0±0,8	30,0±1,2	10,0±1,1	12,0±0,9	15,0±0,6
ЧСП II	20,0±1,0	25,0±0,8	30,0±1,1	25,0±0,8	30,0±1,1	35,0±1,0	23,0±0,8	25,0±0,9	28,0±0,8
ЧСП III	22,0±0,9	24,0±1,2	25,0±0,6	10,0±0,6	20,0±0,8	24,0±0,9	12,0±0,7	15,0±1,0	25,0±0,9

Можливий механізм дії поверхнево-активних речовин катіонного типу (похідні імідазопіридинію) на грам-негативні сульфатвідновлювальні бактерії родів *Desulfomicrobium* та *Desulfovibrio* [2, 3] пов'язаний з дією на ліпополіцукриди зовнішньої мембрани бактерій, що має негативний заряд [5]. Позитивний заряд атома Нітрогену в молекулах солей (табл. 1) та їх гідрофобні властивості ($lgP > 5$) (табл. 2) дозволяє їм зв'язатися з аніонними компонентами клітинних структур бактерій за рахунок електростатичної взаємодії, що призводить до змін зовнішньої мембрани та робить клітину більш чутливою до дії органічних сполук [6].

Особливості мікробної корозії сталі за присутності моно- (штам бактерій *Desulfovibrio* sp. М-4.1 та *Desulfomicrobium* sp. ТС 4) і змішаних культур сульфатвідновлювальних бактерій (штам *Desulfomicrobium* sp. ТС 4 та штам *Desulfovibrio* sp. М-4.1) взято у таких співвідношеннях: 50% : 50%; 70% : 30%; 30% : 70% відповідно наведені в табл. 3.

Таблиця 3. Показники процесу мікробної корозії сталі СтЗпс за присутності моно- та змішаних культур сульфатвідновлювальних бактерій (експозиція 240 год)

Table 3. Indices of microbial StЗps steel corrosion in the presence of mono- and mixed cultures of sulfate-reducing bacteria (exposure 240 hours)

Показники	Культура бактерій				
	<i>Desulfomicrobium</i> sp. ТС 4	<i>Desulfovibrio</i> sp. М-4.1	<i>Desulfomicrobium</i> sp. ТС 4: <i>Desulfovibrio</i> sp. М-4.1		
			50%:50%	70%:30%	30%:70%
$K_m, g/(m^2 \times h)$	$(15,6 \pm 1,2) \times 10^{-3}$	$(23,9 \pm 1,9) \times 10^{-3}$	$(24,7 \pm 0,8) \times 10^{-3}$	$(23,8 \pm 0,9) \times 10^{-3}$	$(36,4 \pm 1,0) \times 10^{-3}$
Вміст $H_2S, mg/l$	175,3±3,7	254,0±2,6	420,0±1,3	403,8±1,5	365,2±0,9
Титр бактерій у планктоні, cl/ml	10^8	10^8	10^7	10^7	10^{10}
Титр бактерій у біоплівці, cl/ml	10^5	10^6	10^5	10^5	10^9

Встановлено, що бактерії штаму *Desulfovibrio* sp.М-4.1 проявляють сильнішу корозійну (в 1,5 рази) та сульфатвідновлювальну (в 1,5 рази) активності порівняно зі штамом *Desulfomicrobium* sp. ТС 4. При цьому чисельність бактерій у планктоні обох штамів однакова та становить 10^8 кл/мл, а в біоплівці клітин бактерій штаму *Desulfovibrio* sp.М-4.1 на порядок більше (табл. 3).

Швидкість мікробної корозії сталі (в 1,5 – 2,3 рази) та продукування сірководню (в 1,4 – 2,4 рази) більша в змішаних культурах СВБ порівняно з окремими штамми. Корозійна активність змішаної культури СВБ штамів *Desulfomicrobium* sp. ТС 4: *Desulfovibrio* sp. М-4.1 (30% : 70%) більша в 1,5 рази, ніж у культурах з іншим співвідношенням. Це може пояснюватись найбільшою кількістю адгезованих (10^9 cl/ml) і планктонних (10^{10} cl/ml) клітин СВБ у зазначеній культурі.

Отже, штам сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfovibrio* sp. М-4.1 корозійно активніший, ніж штам *Desulfomicrobium* sp. ТС 4. Сульфатвідновлювальні бактерії зазначеного штаму у складі змішаної культури створюють більш агресивне щодо металу середовище. Урахування внеску різних штамів корозійно активних бактерій у створення агресивності середовища є необхідною умовою під час пошуку інгібіторів-біоцидів мікробної корозії металевих конструкцій.

Нами з'ясовано протикорозійні властивості біоцидів низки похідних імідазопіридинію щодо СВБ в моно- та змішаних культурах штамів *Desulfomicrobium* sp. ТС 4 та *Desulfovibrio* sp. М-4.1 (табл. 4). Встановлено негативний вплив похідних імідазопіридинію на функціонування сульфатвідновлювальних бактерій за умов мікробної корозії сталі.

Чисельність бактерій досліджуваних штамів за дії похідних імідазопіридинію зменшується, але їх вплив на планктонну та біоплівкову форми штамів різний. Так, за присутності ЧСП I – ЧСП III спостерігали зменшення чисельності бактерій обох штамів у планктоні на 4 – 6 порядки, а в біоплівці – на 1 – 6 порядки порівняно з контролем.

За дії досліджуваних солей чисельність бактерій штаму *Desulfovibrio* sp. М-4.1 у планктоні зменшилась на 4 – 5 порядків і знизилась їх сульфатвідновлювальна активність ($S = 75,2...76,9$ %). Бактерії планктонної форми штаму *Desulfomicrobium* sp. ТС 4 максимально зменшили свою чисельність за ЧСП I у корозивному середовищі, що узгоджується із найбільшим пригніченням їх метаболічної активності (ступінь впливу на сульфатредукцію становить 86,6 %).

Бактерії штаму *Desulfomicrobium* sp. ТС 4 у біоплівці за присутності похідних імідазопіридинію зменшують свою чисельність на 1–3 порядки. За дії заміщених похідних імідазопіридинію (ЧСП II та ЧСП III) розвиток бактерій штаму *Desulfovibrio* sp. М-4.1 в біоплівці не відбувся, а за присутності ЧСП I зменшився на 4 порядки. Тоді як саме для цього штаму бактерій у контролі зафіксована найбільша чисельність (10^6 cl/ml). Отже, біоплівкова форма

бактерій штаму *Desulfovibrio* sp. M-4.1 виявилася більш чутливою до похідних імідазопіридинію (табл. 4).

Таблиця 4. Протикорозійні властивості похідних імідазопіридинію за умов мікробної корозії сталі Ст3пс, індукованої культурами бактерій штамів *Desulfomicrobium* sp. TC 4 та *Desulfovibrio* sp. M-4.1 (експозиція 336 год)

Table 4. Anticorrosive properties of imidazopyridine derivatives under the microbial corrosion of St3ps steel, induced by the bacteria cultures of *Desulfomicrobium* sp. TC 4 and *Desulfovibrio* sp. M-4.1 strains (exposure 336 hours)

Умове позначення речовини	Зменшення чисельності СВБ (порядки)		S, %	γ_m	Z _m , %
	планктон	біоплівка			
<i>Desulfomicrobium</i> sp. TC 4					
ЧСП I	6	2	86,6	5,4	81,5
ЧСП II	6	3	63,8	3,7	73,0
ЧСП III	6	1	73,0	4,7	78,7
<i>Desulfovibrio</i> sp. M-4.1					
ЧСП I	5	4	76,9	10,2	90,2
ЧСП II	5	6	75,2	3,6	72,2
ЧСП III	4	6	75,2	7,2	86,1
<i>Desulfomicrobium</i> sp. TC 4: <i>Desulfovibrio</i> sp. M-4.1 (30%:70%)					
ЧСП III	3	5	75,0	6,6	85,0

Таким чином, визначено, що за умов мікробної корозії сульфатвідновлювальні бактерії родів *Desulfovibrio* та *Desulfomicrobium* по-різному реагують на похідні імідазопіридинію, що впливає на ефективність захисту сталі від мікробної корозії.

Встановлено, що похідні імідазопіридинію гальмують у 3,6–10,2 рази швидкість мікробної корозії сталі Ст3пс, індукованої бактеріями штамів *Desulfomicrobium* sp. TC 4 та *Desulfovibrio* sp. M-4.1, та проявляють захисний ефект 72,2...90,2 %. Більш ефективне інгібування мікробної корозії сталі, індукованої моно- культурами сульфатвідновлювальних бактерій, виявлено для незаміщеного похідного імідазопіридинію та становить 81,5 % та 90,2 % (табл. 4).

Достатньо високі захисні властивості досліджених похідних імідазопіридинію за умов мікробної корозії сталі можна пояснити біоцидними властивостями речовини щодо сульфатвідновлювальних бактерій (табл. 2) та пригніченням їх функціонування (табл. 4). А протикорозійні властивості – наявністю позитивно зарядженого атома азоту в молекулах речовин, що полегшує їх адсорбцію на негативно заряджених поверхнях бактеріальної клітини та металу. Це зменшує адгезію бактерій до сталі та гальмує розвиток сульфатвідновлювальних бактерій. Утворення щільніших захисних адсорбційних плівок на поверхні металу призводить до зниження виділення водню з поверхні сталі, що гальмує каталітичну функцію СВБ як деполаризаторів катодного процесу [7].

Показано, що за умов мікробної корозії сталі, індукованої змішаною культурою сульфатвідновлювальних бактерій штамів *Desulfomicrobium* sp. TC 4 та *Desulfovibrio* sp. M-4.1 у співвідношенні 30 : 70 %, у присутності похідного імідазопіридинію (ЧСП III) чисельність бактерій зменшується в планктоні (на 3 порядки) та біоплівці (на 5 порядків). Ступінь впливу на бактеріальну сульфатредукцію становить 75,0 %. Захисний ефект дорівнює 85,0% (табл. 4).

Таким чином, встановлено, що похідні імідазопіридинію є ефективними інгібіторами-біоцидами за умов мікробної корозії сталі Ст3пс, індукованої бактеріями штамів *Desulfomicrobium* sp. TC 4 та *Desulfovibrio* sp. M-4.1.

ВИСНОВКИ

1. З'ясовано особливості мікробної корозії сталі за присутності моно- (штам *Desulfomicrobium* sp. ТС 4 та штам *Desulfovibrio* sp. М-4.1) та змішаних культур сульфатвідновлювальних бактерій. Показано, що переважання у складі змішаної культури сульфатвідновлювальних бактерій штаму *Desulfovibrio* sp. М-4.1 створює більш агресивне щодо металу середовище. Це необхідно враховувати в практиці протикорозійного захисту металевих споруд.

2. Інгібувальна дія низки похідних імідазопіридинію за умов мікробної корозії сталі СтЗпс зумовлена їхніми біоцидними властивостями. Захисний ефект становить до 90,2 %. Похідні імідазопіридинію, що містять четвертинний азот, є перспективними для попередження корозії сталі у середовищах з сульфатвідновлювальними бактеріями роду *Desulfovibrio* та *Desulfomicrobium*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Мікробна корозія підземних споруд // Андреюк К.І., Козлова І.А., Коптева Ж.П. та ін. – К.: Наук. думка, 2005. – 259 с.
2. Демченко Н.Р., Курмакова І.М., Третяк О.П. Особливості корозійно активного мікробного угруповання феросфери газопроводу, прокладеного у піщаному ґрунті // Мікробіологія і біотехнологія. – 2013. – № 4. – С. 90–98.
3. Пуриш Л.М., Асауленко Л.Г., Абдулина Д.Р., Иутинская Г.А. Биоразнообразие сульфатредуцирующих бактерий, развивающихся на объектах теплосетей // Мікробіологічний журнал. – 2014. – Т. 76, № 3. – С. 11–17.
4. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова. – М.: Изд-во МГУ, 1983. – 215 с.
5. Helander I.M., Nurmiäho-Lassila E.L., Ahvenainen R. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria // Int. J. Food Microbiol. – 2001. – V. 71. – P. 235–244.
6. Орлов В. Д. Медицинская химия : [учеб. для студ. хим. спец. высших учеб. зав.] / В. Д. Орлов, В. В. Липсон, В. В. Иванов. – Х. : Фолио, 2005. – 460, [1] с.
7. Погребова И.С., Пуриш Л.М., Козлова И.А., Туовинен О.Х. Электрохимические аспекты ингибирования процесса микробной коррозии стали в присутствии сульфатредуцирующих бактерий // Вопросы химии и химической технологии. – 1999. – № 1. – С. 268–270.