

РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС-МЕТОДА КОНТРОЛЯ БИОПОВРЕЖДЕНИЙ НЕФТЕПРОДУКТОВ И ТЕХНИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ. ЧАСТЬ I

© 2021 г. Д. А. Санджиева^{1,*}, Е. М. Чудинова², А. С. Еланский², С. Н. Еланский^{2,3},
А. Н. Удовиченко¹, А. А. Бурова¹, М. П. Кирпичников³, А. Г. Дедов^{1,4}

¹ Российский государственный университет нефти и газа (НИУ) им. И.М. Губкина, Москва, 119991 Россия

² Российский университет дружбы народов, Москва, 117198 Россия

³ Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, 119991 Россия

⁴ Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН, Москва, 119991 Россия

*E-mail: delya_sand@mail.ru

Поступила в редакцию 3 сентября 2020 г.

После доработки 11 сентября 2020 г.

Принята к публикации 18 сентября 2020 г.

Созданы основы экспресс-метода контроля биоповреждений технических жидкостей на примере смазочно-охлаждающих жидкостей (СОЖ). Рассмотрены физико-химические и эксплуатационные свойства отработанных СОЖ. Показано, что потеря биостойкости СОЖ приводит к необратимым изменениям физико-химических и эксплуатационных свойств. Создан банк тестовых микроорганизмов, необходимых для валидации экспресс-метода контроля биоповреждений.

Ключевые слова: СОЖ, коррозионно-опасные микроорганизмы, коррозионное воздействие СОЖ, биокоррозия, биоповреждение

DOI: 10.31857/S0028242121010135

Технические жидкости на основе нефтепродуктов широко используются в технологических процессах машиностроения, оборонной, аэрокосмической, химической и нефтехимической отраслях промышленности. Наибольшая доля промышленного потребления приходится на водосмешиваемые СОЖ, которые делятся на эмульсионные, полусинтетические и синтетические. Рабочие растворы водосмешиваемых СОЖ содержат, как правило, от 2 до 15% концентрата, в состав которого входят: минеральные масла, многоатомные спирты, сложные эфиры, а также эмульгаторы (жирные спирты или аминспирты), ингибиторы коррозии (жирные кислоты, амины, бораты) и другие соединения в качестве противозадирных присадок, ингибиторов пенообразования и биоцидов.

В процессе эксплуатации водосмешиваемые СОЖ загрязняются микроорганизмами [1–4], способными разрушать широкий спектр химических соединений в составе СОЖ. Неконтролируемый рост микроорганизмов в СОЖ неизменно приводит к их биоповреждению, которое проявляется в преждевременной потере качества («стойкости») СОЖ, избирательном разрушении функциональных присадок, коррозии оборудования и про-

изводимой продукции [5]. Известно, что более 50% всех коррозионных процессов связывают с воздействием микроорганизмов, при этом ежегодно в результате коррозии, например, в США теряется около 4% ВВП, в Японии – 1%. СОЖ, утратившие функциональные действия, подлежат досрочной замене, что значительно увеличивает объемы сбрасываемых сточных вод [6]; при этом ежегодное мировое потребление водосмешиваемых СОЖ оценивается в 2×10^9 л [7]. Биоповреждение СОЖ также сопровождается ухудшением санитарно-гигиенических условий работы персонала с СОЖ, которое приводит к возникновению профессиональных заболеваний (аллергических, легочных и кожных).

Эффективность применения биоцидов в составе используемых СОЖ зачастую низка. Связано это, в первую очередь, с недостаточным уровнем мониторинга качества биоповреждения СОЖ. При этом применяемые методы контроля биоповреждения имеют ряд существенных недостатков: длительность процедуры обнаружения микроорганизмов (24 ч и более); невозможность обнаруживать некультивируемые формы или неактивные (но живые) микроорганизмы. Несмотря на значительный прогресс в микробиологических методах исследо-

вания, промышленность продолжает использовать способы, разработанные более ста лет назад. В связи с этим, существует острая необходимость в современном методе, позволяющем своевременно, точно и быстро дать оценку уровня и вида микробиологического биоповреждения СОЖ.

Цель этой серии работ – разработка нового экспресс-метода контроля микроорганизмов-деструкторов нефтепродуктов и технических жидкостей. Данная статья посвящена разработке научных основ экспресс-метода, а именно: исследованию физико-химических и эксплуатационных свойств отработанных¹ СОЖ, оценке биостойкости СОЖ в присутствии ряда распространенных и перспективных биоцидных присадок.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для анализа зараженности микроорганизмами и получения чистых культур были исследованы отработанные рабочие растворы и концентраты эмульсионных, синтетических и полусинтетических СОЖ. Образцы СОЖ отбирали на предприятиях, расположенных в различных регионах России: Московская, Волгоградская, Липецкая, Ярославская области, Краснодарский край, Республика Татарстан. Для анализа образцов на зараженность микроорганизмами 20 мкл каждого образца СОЖ распределяли по поверхности питательной среды в чашках Петри. Для выделения мицелиальных грибов использовали агаризованную овсяную среду, дрожжевых грибов – среду ГРУА, бактерий – среду ЛВ.

ДНК мицелиальных грибов выделяли путем растирания кусочков колонии с жидким азотом в ступке. Гомогенизированный материал переносили в микропробирку объемом 1.5 мл, добавляли 800 мкл лизирующего буфера (0.001 М раствор трис-(гидроксиметил)аминометана, или ТРИС, с рН 8.0; 1.4 М раствор NaCl, 0.2 М раствор этилендиаминтетрауксусной кислоты, ЭДТА; 2%-ный раствор цетилтриметиламмония бромид, ЦТАБ). После перемешивания смесь инкубировали в течение часа на водяной бане при температуре 65°C, очищали хлороформом, осаждали смесью изопропанола с ацетатом калия (1/10 объема; 5 М; рН 4.6), промывали 70%-ным этанолом, затем растворяли в воде. ДНК из дрожжевых форм грибов и бактерий выделяли аналогичным образом.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в амплификаторе «BiometaT1» (Biometa,

¹ СОЖ, проработавшая срок или утратившая в процессе эксплуатации качество, установленное нормативно-технической документацией, и слитое из рабочей системы.

Германия). Было проведено секвенирование маркерных видоспецифичных последовательностей фрагментов ядерных рибосомных генов, содержащих участки ITS1-5.8S-ITS2, дополнительно для грибов рода *Penicillium* – фрагмента гена β -тубулина, для грибов рода *Fusarium* фрагмента фактора элонгации трансляции –1-альфа (*tef1 α*). Секвенирование ДНК проводили по методу Сэнгера в ЗАО «Евроген».

Тестирование микроорганизмов на способность развиваться в СОЖ проводили на шести видах СОЖ. В приготовленный в соответствии с инструкцией рабочий раствор СОЖ помещали кусочек агара с мицелием гриба диаметром 0.5 см или 20 мкл суспензии дрожжей или бактерий после 18 ч инкубации в жидкой среде при качании. Концентрацию дрожжей и бактерий оценивали при посеве и после инкубации методом посева на агаризованную питательную среду с последующим учетом КОЕ. Оценка роста мицелиальных грибов проводили визуально.

Определение коррозионного воздействия СОЖ проводили по DIN 51360-2-1981. Предварительно свежеприготовленные растворы СОЖ заражали следующим образом: кусочек агара с мицелием или 20 мкл суспензионной культуры дрожжевых форм или бактерий помещали в 20 мл СОЖ и инкубировали при постоянном качании в течение 7 или 14 суток. Чугунные стружки помещали на фильтровальную бумагу в чашке Петри и затем наносили зараженный раствор СОЖ. По истечении 2 ч степень коррозионного воздействия СОЖ оценивали визуально по 4-х балльной шкале.

Тестирование устойчивости к биоцидам осуществляли на агаризованной среде с добавлением разных концентраций тестируемого биоцида [8–10]. В центр чашек Петри помещали кусочек агара с мицелием гриба или 20 мкл жидкой культуры бактерий или дрожжевых форм грибов, предварительно выращенной в течение 16 ч при 25°C на качалке. В качестве контроля использовали агаризованную среду без добавления биоцида. Диаметр мицелия измеряли на третий день, рост колоний бактерий и дрожжевых грибов изучали на второй день.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для проведения исследований были отобраны 29 образцов СОЖ: 15 концентратов и 14 отработанных рабочих растворов СОЖ; из них 11 – СОЖ на основе минерального масла, 1 – полусинтетическая, 2 – синтетическая СОЖ). Микроорганизмы были обнаружены в 10-ти образцах СОЖ на основе минерального масла: в двух образцах обнаружены бактерии, в трех – только грибы, в пяти – грибы и бактерии одновременно.

Известные в России немногочисленные исследования микробиоты СОЖ были выполнены классическими методами микробиологии еще в кон. 1990-х – нач. 2000-х гг. [11, 12]. В связи с этим, представляло интерес исследовать видовую принадлежность не только по культурально-морфологическим признакам, но и с применением современных методов микробиологии. В результате была создана база данных тестовых микроорганизмов-деструкторов СОЖ в виде чистых культур:

– мицелиальные и дрожжевые грибы: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Cladosporium* sp., *Penicillium chrysogenum*, *Yarrowia lipolytica*, *Cadophora* sp., *Pleurostoma richardsiae*, *Candida parapsilosis*, *Candida metapsilosis*;

– бактерии: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus simulans*, *Lysinibacillus fusiformis*, *Delftia acidovorans*, *Brevundimonas mediterranea*, *Trabulsiella* sp.

Грибы *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Candida* spp. и бактерии рода *Pseudomonas* довольно часто выделяют из отработанных СОЖ [13]. Вид *Y. lipolytica* ранее не был показан как контаминант СОЖ, но имеются данные, что он способен усваивать углеводороды [14]. Вполне вероятно, что трудности с морфологической идентификацией дрожжевых организмов не позволяли выявить *Y. lipolytica* как контаминант СОЖ. Среди выделенных микроорганизмов присутствуют аллергенные, токсикогенные и потенциально патогенные для человека виды.

Физико-химические и эксплуатационные свойства отработанных СОЖ были исследованы на примере семи образцов эмульсионных СОЖ, отобранных с участков токарной обработки алюминия, стали и чугуна. Образцы отработанных СОЖ были охарактеризованы по следующим позициям: водородный показатель (рН), склонность к пенообразованию, содержание посторонних неэмульгированных масел, коррозионное воздействие. Было показано, что физико-химические и эксплуатационные свойства всех образцов не соответствуют требованиям технических условий на соответствующие марки СОЖ. При этом в двух образцах микроорганизмы не были обнаружены. Несоответствие техническим условиям в этих образцах было связано с повышенным пенообразованием, причиной которого может быть недостаточная жесткость воды, использованной для приготовления рабочего раствора СОЖ.

Показано также, что в двух образцах СОЖ, содержащих микроорганизмы, водородный пока-

затель был ниже 6 при норме 9, а коррозионное воздействие СОЖ характеризовалось как «очень сильное» (4 балла). Коррозионное действие СОЖ, обычно связывают как со способностью микроорганизмов-деструкторов продуцировать жирные кислоты, так и с микробиологическим разрушением антикоррозионных присадок. В этих же образцах отсутствовало пенообразование, что возможно указывает на снижение концентрации эмульгатора, которое впоследствии может привести к расслоению эмульсии. Еще один образец имел рН ниже нормы – 8.30, содержал посторонние неэмульгированные масла, характеризовался коррозионным действием в 3 балла, а также имел повышенное пенообразование. Неэмульгированные масла, как правило, поступают в СОЖ при контактировании с маслами в ходе циркуляции в системе подачи СОЖ.

Повышенное пенообразование с большой вероятностью связано с микробиологическим заражением исследованных СОЖ. Так, основными продуктами жизнедеятельности микроорганизмов в СОЖ являются жирные кислоты, образующиеся в результате окисления углеводов и других органических соединений в СОЖ. Жирные кислоты в рабочих растворах СОЖ вызывают образование пены, что снижает качество обработки металла.

Результаты испытаний образцов СОЖ, зараженных микроорганизмами, показали, что в наибольшей степени изменение физико-химических свойств связано с понижением значения водородного показателя и коррозионной активностью СОЖ. Следует отметить, что исследованные образцы отработанных СОЖ, содержащиеся в качестве основных компонентов рапсового и индустриальное масло И-12А, имели более глубокий характер биоповреждений. Эти компоненты являются наиболее предпочтительными субстратами для большинства микроорганизмов-деструкторов СОЖ [15].

Для исключения случайных видов и подтверждения способности выделенных микроорганизмов расти на СОЖ, была исследована их способность развиваться в образцах пяти видов СОЖ на основе минерального масла и в одной полусинтетической СОЖ. Самыми агрессивными деструкторами оказались мицелиальные грибы *F. solani* и *F. oxysporum*, показавшие рост на всех шести видах СОЖ. Дрожжевой штамм *F. oxysporum* не рос на полусинтетической СОЖ. Менее универсальны в способности деструкции разных видов СОЖ оказались *P. chrysogenum*, *Y. lipolytica* – рост отмечен на четырех образцах СОЖ, а у *Cladosporium* sp. – на двух видах СОЖ.

Коррозионная активность СОЖ при эксплуатации может происходить как за счет разрушения

Таблица 1. Коррозионная активность водосмешиваемых СОЖ на основе минерального масла в присутствии выделенных штаммов микроорганизмов

Штамм	Вид микроорганизма	Коррозионная активность, балл ^a	
		7-й день	14-й день
Мицелиальные грибы			
17MWF3.2	<i>Penicillium chrysogenum</i>	1	4
17MWF3.3	<i>Fusarium oxysporum</i>	3	4
18MWF11.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	4	4
18MWF13.1	<i>Cladosporium</i> sp.	0	0
18MWF13.2	<i>Fusarium solani</i>	3	3
18MWF14.1	<i>Fusarium solani</i>	3	4
18MWF15.2	<i>Fusarium oxysporum</i>	4	4
Дрожжевые грибы			
18MWFY15.2	<i>Yarrowia lipolytica</i>	3	3
18MWFY21.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	4	4
Бактерии			
17MWF4.1	<i>Pseudomonas</i> sp.	1	3
18MWB13.1	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1
18MWF4.1	<i>Shewanella putrefaciens</i>	1	1
18MWF4.2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	0	0
18MWF4.1	<i>Proteus</i> sp.	1	2

^a (0) нет видимых продуктов коррозии, (1) очень слабая, (2) слабая, (3) сильная, (4) очень сильная коррозия.

антикоррозионных присадок, так и в результате метаболической активности микроорганизмов. При отсутствии надлежащего контроля состояния коррозионно-активные СОЖ подлежат замене. Продление сроков службы водорастворимых СОЖ, повышение их биостойкости обеспечивается применением биоцидных препаратов. В связи с этим, нами исследована коррозионная активность СОЖ и их биостойкость в отношении ряда биоцидов. Была исследована коррозионная активность эмульсионной водосмешиваемой СОЖ на основе минерального масла под воздействием чистых культур выделенных штаммов бактерий и грибов.

Биокоррозия металлических материалов при эксплуатации СОЖ в аэробных условиях происходит, в основном, за счет секреции микроорганизмами ферментов или метаболитов, понижающих рН среды. Коррозионные свойства СОЖ могут проявляться и за счет накопления органических кислот в результате окисления микроорганизмами компонентов СОЖ. Например, *Y. lipolytica* способна производить лимонную кислоту, используя в качестве субстрата растительные масла и глицерин [16], обычно входящие в состав СОЖ.

Результаты исследования показали, что все грибы, кроме *Cladosporium* sp., проявили коррозионную активность на 14-й день инкубации. Виды

рода *Fusarium* и *Y. lipolytica* показали высокую коррозионную активность уже на седьмые сутки инкубации (табл. 1). Бактерии (за исключением *A. hydrophila*) также обладали коррозионной активностью, хотя и меньшей по сравнению с грибами.

Наиболее сильная коррозия наблюдается при росте сообществ микроорганизмов. Взаимодействуя друг с другом, микроорганизмы вступают в каскад биохимических реакции, что приводит к накоплению продуктов окисления [17, 18]. По-видимому, производство коррозионно-опасных соединений характерно для широкой группы встречающихся в СОЖ микроорганизмов.

Исследование биостойкости СОЖ проведено на примере ряда распространенных и перспективных биоцидных присадок. Существует обширный список веществ, применяемых в качестве биоцидов для СОЖ. Из-за невысокой стоимости в составе СОЖ широко применяются формальдегид-высвобождающие биоциды, большинство из которых проявляют эффективность в отношении бактерий [19]. Вещество из группы триазинов гексагидро-1,3,5-трис(2-гидроксиэтил)-S-триазин (ГТТ) также контролирует размножение грибных микроорганизмов [20]. ГТТ входит в состав препаратов «Grotan», «Вазин-50» и других. Также большой популярностью пользуется биоцид с азотиазоло-

Таблица 2. Оценка биостойкости водосмешиваемых СОЖ на основе минерального масла в присутствии ГТТ (препарат «Вазин-50»)

Штамм	Вид микроорганизма	Диаметр колоний (мм) при концентрации ГТТ (ppm)			
		0	300	1500	7500
Мицелиальные грибы ^а					
17MWF3.2	<i>Penicillium chrysogenum</i>	16±2	0	0	0
17MWF3.3	<i>Fusarium oxysporum</i>	58±3	38±2	17±2	0
18MWF11.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	55±3	28±1	7±2	0
18MWF13.1	<i>Cladosporium sp.</i>	22±4	6±1	0	0
18MWF13.2	<i>Fusarium solani</i>	85±3	65±2	50±5	0
18MWF14.1	<i>Fusarium solani</i>	70±5	65±3	50±3	0
18MWF15.2	<i>Fusarium oxysporum</i>	80±5	60±2	50±3	0
Дрожжевые грибы ^б					
18MWFY15.2	<i>Yarrowia lipolytica</i>	+	+	+	н/п ^в
18MWFY21.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	+	+	+	н/п
Бактерии ^б					
17MWF4.1	<i>Pseudomonas sp.</i>	+	+	0	н/п
18MWB13.1	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	+	+	0	н/п
18MWF4.1	<i>Shewanella putrefaciens</i>	+	+	0	н/п
18MWF4.2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	0	0	н/п
18MWF17.1	<i>Proteus sp.</i>	+	0	0	н/п

^а Для мицелиальных грибов показан диаметр колонии (мм).

^б Для дрожжевых грибов и бактерий «+» обозначено наличие колоний.

^в Не проверяли.

новой группой 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-он (ХМИТ), который часто используется в сочетании с метилизотиазолином (МИТ). Эти вещества содержатся в коммерческих биоцидных препаратах «Kathon CG», «Preventol D7», «АКТИЦИДЕМВ 14».

Для тестирования были использованы: широко распространенный и доступный высвобождающий формальдегид биоцид «Вазин-50» на основе ГТТ, препарат «Актисайд MV-14» с действующими веществами из группы триазинов – ХМИТ/МИТ, а также новый перспективный препарат на основе коллоидного серебра – «Аргитос». Препараты на основе коллоидного серебра пока мало используются как биоцидные добавки для СОЖ, но ввиду их экологической безопасности, возможно, в дальнейшем получат более широкое распространение.

Показано, что препарат «Вазин-50» в рекомендованной производителем дозе (0.3 мас. % = 1500 ppm ГТТ) полностью прекращал рост *P. chrysogenum*, *Cladosporium sp.*, тогда как рост штаммов *Fusarium* и *Y. lipolytica* сдерживал незначительно (табл. 2). Бактерии *A. hydrophila* и *Proteus sp.* оказались чувствительны к препарату «Вазин-50» даже к концентрации в пять раз меньшей, чем минимальная рекомендованная.

Согласно литературным данным, чувствительность к ГТТ микроорганизмов, принадлежащих к

разным таксономическим группам, отличается. В [21] было показано, что минимальная сдерживающая концентрация ГТТ для грибов рода *Penicillium* равнялась 150 ppm, *Aspergillus* – 800 ppm, *Candida* – 750 ppm.

Препарат «Актисайд MV-14» в рекомендованной концентрации 0.125 мас. % (35 ppm ХМИТ/МИТ) подавлял рост всех протестированных микроорганизмов, за исключением мицелиарных грибов *F. oxysporum*, которые продолжали расти, хотя и с меньшей скоростью (табл. 3). Известно, что в присутствии *F. oxysporum* сульфиды и первичные амины ХМИТ/МИТ могут разлагаться до нетоксических соединений. По-видимому, грибные организмы могут выделять метаболиты, способствующие потере активности ХМИТ/МИТ.

Препарат на основе наночастиц серебра (НЧС) «Аргитос» в концентрации 75 ppm (по НЧС) ингибировал рост *Cladosporium sp.*, *Y. lipolytica*, штамм 17MWF3.3 *F. oxysporum* и сдерживал рост остальных исследованных грибных штаммов (табл. 4). Однако он оказался неэффективным в отношении большинства исследованных мицелиальных грибов.

Как показывают результаты исследования коррозионных свойств, зараженных микроорганизмами СОЖ и их биостойкости в присутствии ряда

Таблица 3. Оценка биостойкости СОЖ в присутствии ХМИТ/МИТ (препарат «Актисайд MV-14»)

Штаммы	Вид микроорганизмов	Диаметр колоний (мм) при концентрации ХМИТ/МИТ (ppm)			
		0/0	5.25/1.75	26.25/8.75	131.25/43.75
Мицелиальные грибы ^а					
17MWF3.2	<i>Penicillium chrysogenum</i>	16±5	5±2	0	0
17MWF3.3	<i>Fusarium oxysporum</i>	60±3	27±2	6±1	0
18MWF11.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	55±4	28±1	7±1	0
18MWF13.1	<i>Cladosporium</i> sp.	24±2	10±2	0	0
18MWF13.2	<i>Fusarium solani</i>	75±5	40±3	0	0
18MWF14.1	<i>Fusarium solani</i>	71±4	40±3	0	0
18MWF15.2	<i>Fusarium oxysporum</i>	65±4	30±2	25±2	0
Дрожжевые грибы ^б					
18MWFY15.2	<i>Yarrowia lipolytica</i>	+	0	0	0
Бактерии ^б					
17MWF4.1	<i>Pseudomonas</i> sp.	+	0	0	0
18MWB13.1	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	+	0	0	0
18MWF14.1	<i>Shewanella putrefaciens</i>	+	0	0	0
18MWF14.2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	0	0	0
18MWF17.1	<i>Proteus</i> sp.	+	0	0	0

^а Для мицелиальных грибов показан диаметр колонии (мм).

^б Для дрожжевых грибов и бактерий «+» обозначено наличие колоний.

Таблица 4. Оценка биостойкости водосмешиваемых СОЖ на основе минерального масла в присутствии НЧС (препарат «Аргитос»)

Штаммы	Вид микроорганизмов	Диаметр колоний (мм) при концентрации НЧС (ppm)				
		0	0.3	1.5	7.5	75
Мицелиальные грибы ^а						
17MWF3.2	<i>Penicillium chrysogenum</i>	16±4	18±2	17±2	18±2	8±2
17MWF3.3	<i>Fusarium oxysporum</i>	50 ±5	46±3	49±3	26±2	0
18MWF11.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	65±4	60±4	60±1	37±1	15±1
18MWF13.1	<i>Cladosporium</i> sp.	24±3	10±1	10±1	6±1	0
18MWF13.2	<i>Fusarium solani</i>	70 ±5	70±3	65±2	55±2	20±2
18MWF14.1	<i>Fusarium solani</i>	57±4	57±4	55±2	37±2	20±2
18MWF15.2	<i>Fusarium oxysporum</i>	47±5	47±3	47±2	45±3	5±1
Дрожжевые грибы ^б						
18MWFY15.2	<i>Yarrowia lipolytica</i>	+	+	+	н/П ^в	0
18MWFY21.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	+	+	+	+	+
Бактерии ^б						
17MWF4.1	<i>Pseudomonas</i> sp.	+	+	+	+	0
18MWB13.1	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	+	+	+	+	0
18MWF14.1	<i>Shewanella putrefaciens</i>	+	+	+	+	0
18MWF14.2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	+	+	0
18MWF17.1	<i>Proteus</i> sp.	+	+	+	+	0

^а Для мицелиальных грибов показан диаметр колонии (мм).

^б Для дрожжевых грибов и бактерий «+» обозначено наличие колоний.

^в Не проверяли.

биоцидов, среди исследованных микроорганизмов мицелиальные грибы проявили себя как наиболее агрессивные деструкторы СОЖ. Показано, что к самым активными биодеструкторам СОЖ следует отнести мицелиальные и дрожжевые грибы рода *Fusarium*, дрожжевой гриб *Yarrowia lipolytica* и бактерия *Pseudomonas sp.* Следовательно, детекции этих микроорганизмов будет уделяться особое внимание.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Созданы научные основы по разработке нового экспресс-метода контроля микроорганизмов-деструкторов технических жидкостей на примере СОЖ. Показано, что потеря биостойкости СОЖ приводит к необратимым изменениям физико-химических и эксплуатационных свойств СОЖ. Наибольшее биоповреждение отмечено, для водосмешиваемых СОЖ на основе минеральных и растительных масел. Выявлены коррозионно-опасные, устойчивые к биоцидам микроорганизмы, которые будут использоваться в качестве тестовых культур при разработке и валидации экспресс-метода контроля биоповреждений.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке РГУ нефти и газа (НИУ) имени И.М. Губкина, Российского фонда фундаментальных исследований (грант 18-29-05066мк). Работа в части исследования физико-химических свойств технических жидкостей выполнена в рамках государственного задания ИНХС РАН.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Санджиева Делгир Андреевна, к.х.н., ORCID – 0000-0003-1958-1821

Чудинова Елена Михайловна, к.б.н., ORCID – 0000-0003-3157-494X

Еланский Александр Сергеевич, ORCID – 0000-0001-7485-7654

Еланский Сергей Николаевич, д.б.н., ORCID – /0000-0003-1697-1576

Удовиченко Александр Николаевич, ORCID – 0000-0002-5758-0283

Бурова Анастасия Александровна, ORCID – 0000-0002-3099-3686

Кирпичников Михаил Петрович, д.б.н., ORCID – 0000-0003-1720-0036

Дедов Алексей Георгиевич, д.х.н., ORCID – 0000-0001-8086-2345

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Saha R., Donofrio R.S. The microbiology of metalworking fluids // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2012. V. 95. P. 1119.
2. Trafny E.A. Microorganisms in metalworking fluids: current issues in research and management // *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*. 2013. V. 26. P. 4.
3. Di Maiuta N., Rüfenacht A., Küenzi P. Assessment of bacteria and archaea in metalworking fluids using massive parallel 16S rRNA gene tag sequencing // *Lett. Appl. Microbiol.* 2017. V. 65. № 4. P. 266.
4. Vanhauteghem D., Audenaert K., Demeyere K., Hoogendoorn F., Janssens G.P.J., Meyer E. Flow cytometry, a powerful novel tool to rapidly assess bacterial viability in metalworking fluids: proof-of-principle // *PLoS One*. 2019. V. 14. № 2. e0211583.
5. Rabenstein A., Koch T., Remesch M., Brinksmeier E., Kuever J. Microbial degradation of water miscible metal working fluids // *Intern. Biodeterioration & Biodegradation*. 2009. V. 63. № 8. P. 1023.
6. Van der Gast C.J., Whiteley A.S., Lilley A.K., Knowles C.J., Thompson I.P. Bacterial community structure and function in a metalworking fluid // *Environ. Microbiol.* 2003. V. 5. № 6. P. 453.
7. Cheng. C., Phipps D., Alkhaddar R.M. Thermophilic aerobic waste water treatment of waste metalworking fluids // *Water Environ. J.* 2006. V. 20. № 4. P. 227.
8. Wiegand I., Hilpert K., Hancock R.E. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances // *Nat. Protoc.* 2008. V. 3. № 2. P. 163.
9. Dzhevakhviya V., Shcherbakova L., Semina Y., Zhemchuzhina N., Campbell B. Chemosensitization of plant pathogenic fungi to agricultural fungicides // *Front. Microbiol.* 2012. V. 3. № 3. P. 1–9.
10. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 11-th Edition. V. 33. № 2. Approved Standard M07-A11. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Wayne, 2018.
11. Картавецова З.М., Коваль Э.З., Калаганов В.А. Ингибирование роста микромицетов в полусинтетической смазочно-охлаждающей жидкости «Акватек» // *Микробиологический журн.* 1987. Т. 49. № 5. С. 85.
12. Смирнова Н.Н. Микробная деструкция водорастворимых смазочно-охлаждающих жидкостей и методы ее предупреждения. Автореф. дис. ... канд. биолог. наук. Казань, 1993. 18 с.

13. *Passman F.J.* Starting from scratch: microbial problems in metalworking fluids // *Lubrication Engineering*. 1988. V. 44. № 5. P. 431.
14. *Beopoulos A., Desfougeres T., Sabirova J., Zinjarde S., Neuvéglise C., Nicaud J.-M.* The hydrocarbon-degrading oleaginous yeast *yarrowialipolytica* fung in book: *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*. Springer Berlin Heidelberg. 2010. P. 2111.
15. *Scaife H.* Cross Contamination of Metal Working Fluid Systems // *Research report 441*. 2006. 22 p.
16. *Morgunov I.G., Kamzolova S.V., Lunina J.N.* Citric acid production by *yarrowia lipolytica* yeast on different renewable raw materials // *Fermentation*. 2018. V. 4. P. 36
17. *Videla H.A., Herrera L.K.* Understanding microbial inhibition of corrosion. A comprehensive overview // *Int. Biodeter. Biodegrad.* 2009. V. 63. P. 896.
18. *Kip N., van Veen J.* The dual role of microbes in corrosion // *ISME J.* 2015. V. 9. №3. P. 542.
19. *Allosopp D., Seal K., Gaylarde C.* Introduction to biodeterioration. Cambridge University Press, 2004. 243 p.
20. *Paulus W.* Microbiocides for the protection of materials. A Handbook. Springer-Science+Business Media. B.V., 1993. 496 p.
21. *Инюшева А.А., Смирнова Н.Н., Фридланд С.В.* Анализ методов защиты смазочно-охлаждающих жидкостей от микробной деструкции // *Вестник технологического университета*. 2018. Т. 21. № 1. С. 160.