РАЗДЕЛ VII. ХИМИЯ

Гусева Е.В., Кутлахметова А.Р., Куликова Д.И., Зиганшина М.Р.
Бромид трифенилгексадецилфосфония в процессе биodeградации нефти
сульфатвосстанавливающими бактериями рода *Desulfobacter*

Казанский национальный исследовательский технологический университет
(Россия, Казань)

doi: 10.18411/lj-09-2019-43

idsp: ljjournal-09-2019-43

Аннотация

Проведено химико-биологическое моделирование бактерицидной активности бромид трифенилгексадецилфосфония $[(C_6H_5)_3PC_{16}H_{33}]Br$ в присутствии культуры сульфатвосстанавливающих бактерий рода *Desulfobacter*. Показано, что $[(C_6H_5)_3PC_{16}H_{33}]Br$ значительно тормозит рост бактерий и способствует торможению биodeградации нефти.

Ключевые слова: бромид трифенилгексадецилфосфония, бактерицидная активность, сульфатвосстанавливающие бактерии *Desulfobacter*, рост биомассы, остаточная концентрация нефти, степень биodeградации нефти

Abstract

Chemical-biological modeling of the bactericidal activity of triphenylhexadecylphosphonium bromide $[(C_6H_5)_3PC_{16}H_{33}]Br$ in the presence of a culture of sulfate-reducing bacteria of the genus *Desulfobacter* was carried out. It has been shown that $[(C_6H_5)_3PC_{16}H_{33}]Br$ significantly inhibits the growth of bacteria and contributes to the inhibition of oil biodegradation.

Keywords: triphenylhexadecylphosphonium bromide, bactericidal activity, sulfate reducing bacteria *Desulfobacter*, biomass growth, residual oil concentration, degree of oil biodegradation

Введение. Технологии заводнения нефтеносных пластов поверхностными водами для поддержания пластового давления, применяемые при использовании вторичных методов добычи нефти, приводят к постоянному поступлению кислорода и биогенных элементов. Это способствует развитию сульфатвосстанавливающих бактерий (СВБ), участвующих в процессе биогенной сульфатредукции - одном из наиболее распространенных и интенсивных геомикробиологических процессов на земле [1]. Сероводород, являющийся продуктом жизнедеятельности СВБ, вызывает как коррозию нефтепромыслового оборудования, так и ухудшает качество добываемой нефти [2, 3]. Для защиты нефти и нефтепромыслового оборудования эффективно использовать соединения, проявляющие бактерицидные свойства [4]. Значительный интерес, в частности, представляют четвертичные соли фосфония, обладающие помимо бактерицидных, поверхностно - активными свойствами (ПАВ).

Цель работы - выявление особенностей процесса биodeградации нефти СВБ рода *Desulfobacter* в присутствии бромида трифенилгексадецилфосфония $[(C_6H_5)_3PC_{16}H_{33}]Br$ (соединение I).

Материалы и методы исследования. Бактерицидные свойства соединения I и степень биodeградации нефти в его присутствии исследованы на водонефтяной эмульсии (ВНЭ), отобранной с Ромашкинского месторождения Республики Татарстан; процент обводненности – 50%. Использовалась галофильная культура СВБ рода *Desulfobacter*. Условия проведения опытов оптимальны для физиологического роста: диапазон pH = 6.5 – 7.4, температура 20-33⁰С.

Для исследования бактерицидных свойств брали отстоявшуюся ВНЭ в количестве 700 или 250 мл (далее расчет приведен на 700 мл). ВНЭ содержала 7 г/л NaCl, 1 г/л $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 4 г/л Fe^{+2} . Также при этом добавлялось 10% культуры *Desulfobacter* и 0,1 г/л соединения **I**. Проводилось два параллельных опыта из шести серий, которые повторяли дважды: в отсутствии (контроль) и в присутствии исследуемого соединения **I** (опыт). Наблюдения вели в течение 12 суток. Клетки для наблюдений отбирали в экспоненциальной фазе роста. Отбор проб для анализов проводили в течение десяти суток. Для оценки бактерицидной активности определялась концентрация биомассы в среде по оптической плотности с пересчетом на вес абсолютно сухой биомассы (АСБ) по калибровочному графику [5] при наблюдении за кинетикой роста СВБ *Desulfobacter*. Степень подавления роста (S) СВБ *Desulfobacter* (бактерицидная активность) рассчитывалась по формуле: $S = [C_{1к} - C_{2к} / C_{1к}] \cdot 100\%$ (1), где $C_{1к}$ – концентрация биомассы в контролируемой пробе, г/л; $C_{2к}$ – концентрация биомассы в исследуемой пробе, г/л.

Степень биodeградации нефти оценивались по остаточному объему нефти в среде гравиметрическим методом. Исследования проводили на ВНЭ с добавлением 10% культуры *Desulfobacter* при CI = 0.1 г/л. Параллельно проводились контрольные исследования в тех же условиях. Наблюдения велись в течение 12 суток.

Результаты и их обсуждение. К бактерицидам, используемым в нефтяной промышленности, предъявляется ряд требований и, в первую очередь, они не должны ухудшать качество добываемой нефти, а также растворяться или диспергироваться в ней. Соединение **I** отвечает большинству из этих требований. Кроме того, реагент должен обладать достаточно сильным бактерицидным или бактериостатическим действием в применяемых концентрациях. Например, формалин, наиболее часто используемый в качестве бактерида на нефтепромыслах республики Татарстан, проявляет 50% бактерицидную активность при концентрации 150 мг/л [6]. В проводимых исследованиях использовалась концентрация 0.1 г/л.

Анализ кривых роста СВБ (рис. 1а) показал, что в контрольном опыте у культуры *Desulfobacter* фаза замедления роста (лаг-фаза) длится 2 суток. На стационарную фазу культура *Desulfobacter* выходит на 9 сутки; при этом максимальный рост биомассы составляет 30 г/л. В присутствии **I** лаг-фаза удлинится и наблюдается до восьмидесяти суток: ее максимум приходится на 8 суток. Через 12 суток в присутствии **I** рост культуры *Desulfobacter* выходит на стационарную фазу, при которой максимальная концентрация клеток бактерий составляет 7.2 г/л. Таким образом, введение соединения **I** замедляет рост биомассы в 5 раз и рост бактерий тормозится на 76%.

Рисунок 1 - Кинетика роста (а) и кинетика потребления нефти (б) для культуры *Desulfobacter*: 1- контроль; 2-опыт;

Параллельно с наблюдениями за ростом биомассы проведен анализ потребления нефти (рис. 1б) культурой СББ *Desulfobacter*, который показал, что в первые сутки в контроле использовано из питательной среды 120 мл нефти. На третьи сутки потребление нефти бактериями резко возрастает и составляет 243.6 мл, на восьмые – 553 мл. На девятые сутки потребление нефти культурой *Desulfobacter* прекращается. За 12 суток культура *Desulfobacter* потребила 554.4 мл нефти, что составляет 79.2%

В присутствии соединения **I** анализ кривых потребления показал, что в первые сутки культура *Desulfobacter* практически не потребляет нефть. На третьи сутки потребление нефти бактериями составило 57.4 мл нефти, на седьмые – 164 мл. На девятые сутки потребление нефти культурой *Desulfobacter*, как и в контрольном опыте, прекращается. За 12 суток культура *Desulfobacter* потребила 169.4 мл нефти, что составляет 24.2% от введенного количества нефти в питательную среду. Введение соединения **I** значительно снижает темпы потребления нефти культурой *Desulfobacter* по сравнению с контрольным опытом (на 74%); при этом эффект подавления роста культуры сохраняется на протяжении 12 суток. Таким образом, соединение **I** обеспечивает относительно высокую бактерицидную активность по отношению к СББ *Desulfobacter*.

Процессы микробиологического разрушения нефти (биodeградации нефти) наносят огромный вред нефтяной промышленности. Поэтому была оценена степень биodeградации нефти в присутствии соединения **I**. По результатам остаточного содержания нефти в питательной среде строили кривые биodeградации (рис. 3).

Рисунок 3 - Исследование биodeградации нефти: 1- контроль; 2 - опыт

Анализ кривых биodeградации показал, что в контрольном опыте культура бактерий *Desulfobacter* в первые пять суток деградировала около 224 мл нефти.

В присутствии соединения **I** процесс биodeградации нефти значительно снижается. Бактерии культуры *Desulfobacter* в первые пять суток деградировали только 42 мл нефти в среднем. В результате на протяжении 12 суток процесс биodeградации снижается на 69.5%. Таким образом, соединение **I** проявляет значительные бактерицидные свойства по отношению к культуре СББ *Desulfobacter*.

Заключение. Проведенное химико-биологическое моделирование процессов биodeградации нефти органогетеротрофной культурой СББ рода *Desulfobacter* показало, что внесение соединения **I** тормозит рост бактерий на 76% и снижает потребление нефти в среднем на 74%. В результате за 12 суток происходит торможение биodeградации нефти на 69.5%. Следовательно, соединение **I** обладает

бактерицидными свойствами и его можно использовать для предотвращения биodeградации нефти.

Соединение **I** синтезировано и предоставлено для исследований д.х.н. проф. Галкиной И.В. (кафедра высокомолекулярных и элементоорганических соединений Химического института имени А.М. Бутлерова КФУ).

Авторы выражают благодарность директору научно-производственного центра «Экологический консорциум» Т.В. Сахно за полезные дискуссии.

1. Беляев, С.С. Развитие микробиологических процессов в пластовых водах нефтяных месторождений / С.С. Беляев, И.А. Борзенков, Е.И. Милехина // Микробиология. - 1990. - Т.59. - № 6. - С. 1118-1126.
2. Муромец, В.И. Биологическое поражение нефти и нефтепродуктов и их защита при транспорте и хранении / В.И. Муромец, Н.К. Наградова // Биотехнология. - 2004. - № 1. - С. 77-82.
3. Медведева, М.Л. Коррозия и защита оборудования при переработке нефти и газа/ М.Л. Медведева - М.: Изд-во Нефть и газ РГУ нефти и газа, 2005 –312 с.
4. Галкина, И.В. Биологическая активность четвертичных солей фосфония и перспективы их медицинского применения / И.В. Галкина, С.Н. Егорова // Медицинский альманах. Раздел: Фармация. - 2009. - №3.- С. 142-145.
5. Мухаметшина, А.М. Разработка технологии получения высокоэффективного биологически активного вещества «тримиксан» широкого спектра действия [Текст]: дисс. канд. хим. наук: 15.00.02/ Мухаметшина А.М. – Казань, 2008. – 150с.
6. Методика контроля микробиологической зараженности нефтепромысловых вод и оценка бактерицидного защитного действия реагентов - Уфа: ВНИИСПТнефть, 1984 – 36 с.

Гусева Е.В., Кутлахметова А.Р., Зиганшина М.Р., Куликова Д.И.
Химико-биологическое моделирование антиоксидантной активности
фосфониевой соли в присутствии сульфатвосстанавливающих бактерий рода
Desulfobacter

Казанский национальный исследовательский технологический университет
(Россия, Казань)

doi: 10.18411/lj-09-2019-44

idsp: ljjournal-09-2019-44

Аннотация

Проведено химико-биологическое моделирование антиоксидантной активности фосфониевой соли $[(C_6H_5)_3PC_{16}H_{33}]Br$ в присутствии сульфатвосстанавливающих бактерий рода *Desulfobacter*. Показано, что фосфониевая соль значительно замедляет процессы микробиологического окисления нефти.

Ключевые слова: фосфониевая соль, антиоксидантная активность, сульфатвосстанавливающие бактерии *Desulfobacter*, микробиологическое окисление нефти, эффект ингибирования процесса окисления нефти

Abstract

A chemical-biological simulation of the antioxidant activity of the phosphonium salt $[(C_6H_5)_3PC_{16}H_{33}]Br$ in the presence of sulfate-reducing bacteria of the genus *Desulfobacter* was carried out. It has been shown that phosphonium salt significantly slows down the processes of microbiological oxidation of oil.

Keywords: phosphonium salt, antioxidant activity, sulfate reducing bacteria *Desulfobacter*, microbiological oxidation of oil, effect of inhibiting the process of oil oxidation