
ОТКРЫТАЯ НАУКА

УДК 544.773.32, 620.193.8

DOI: 10.15372/KhUR2024536

EDN: JBXKPP

Опытно-промышленные испытания и оценка микробной контаминации гидравлической жидкости на основе концентрата Hydrotol-ITCh HFAE для гидравлических систем механизированных шахтных крепей

В. А. ВАЛЬЦИФЕР¹, М. В. КУЗНЕЦОВА², А. В. ЗАЙЦЕВ³, И. В. ВАЛЬЦИФЕР¹, Е. В. САЕНКО¹,
Л. Ю. НЕСТЕРОВА², Л. Ю. ЛЕВИН³

¹Институт технической химии УрО РАН,
Пермь (Россия)

E-mail: valtsifer.v@itcras.ru

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН,
Пермь (Россия)

³Горный институт УрО РАН,
Пермь (Россия)

(Поступила 11.09.2023; после доработки 05.10.2023)

Аннотация

Приведены результаты опытно-промышленных испытаний и лабораторных исследований огнестойкой гидравлической жидкости, приготовленной на основе разработанного гидравлического концентрата Hydrotol-ITCh HFAE. Показана стабильная работа и сохранение в рабочих параметрах физико-химических свойств разработанной гидравлической жидкости в реальных условиях эксплуатации на контаминированной гидравлической системе предприятия горнорудной отрасли. Установлено, что в течение шести месяцев работы диапазон значений водородного показателя pH, электропроводности, концентрации и бактериологической чистоты гидравлической жидкости значительно не менялся, при этом дозаправки концентратом, как и применения специальных дезинфицирующих и очищающих средств, не требовалось. Методом метагеномного секвенирования впервые изучен микробный состав гидравлической жидкости, подвергавшейся эксплуатации в механизированных крепях предприятия. Молекулярно-генетические методы позволили детектировать широкий спектр бактериальных ассоциантов с различными типами обмена веществ, в том числе анаэробные сульфат-редуцирующие бактерии, участвующие в биологической коррозии металлов.

Ключевые слова: гидравлический концентрат, гидравлическая жидкость, рабочие параметры, микробная контаминация, секвенирование 16S рРНК

ВВЕДЕНИЕ

Развитие отечественного производства конкurentоспособных гидравлических жидкостей для использования в системах механизированных шахтных крепей каменноугольной про-

мышленности и других минералодобывающих и металлургических отраслях является необходимым условием повышения экономической устойчивости страны и уменьшения ее зависимости от импорта. Согласно [1, 2], огнестойкие гидравлические жидкости для гидростатичес-

кой и гидрокинетической передачи усилий и управления разделяют на группы в зависимости от их состава, характерных свойств и области применения. Выделяют четыре категории гидравлических жидкостей на водной основе: эмульсии масло-в-воде (м/в) или “разбавленные” эмульсии (HFA-E); эмульсии вода-в-масле (м/м) или “обратные” эмульсии (HFB); водно-гликолевые растворы (HFC); синтетические водные растворы (HFA-S).

Для оценки характеристик жидкостей типа HFA-E принято осуществлять систематический контроль pH, электропроводности, температуры, биостабильности (содержание микроорганизмов), внешнего вида, запаха, концентрации как в момент приготовления и заправки гидравлической жидкости, так и во время эксплуатации. Качество воды для их приготовления, в частности жесткость, сильно влияет на концентрацию применяемой гидравлической жидкости, стабильность эмульсии в целом и ее антикоррозионные свойства. Вода в России должна соответствовать санитарным нормам [3], в Европе руководствуются рекомендациями 7-го Люксембургского доклада [2]. На практике, как правило, используется вода местного природного происхождения без какой-либо водоподготовки. Качество такой воды может сильно меняться во времени в силу естественных и сезонных факторов. В связи с этим необходим контроль ее физико-химических характеристик.

Свойства гидравлической жидкости могут изменяться при длительном хранении, например на складе или в бездействующих гидравлических системах, а также в процессе работы гидравлических систем. Стабильность основных физико-химических показателей гидравлических жидкостей определяет длительность их эксплуатации в реальных условиях [4]. Для эффективной работы гидравлической жидкости, а также при переходе на гидравлическую жидкость другого производителя необходимо установить факторы, влияющие на изменение ее свойств. Известно, что наибольшее влияние на свойства гидравлической жидкости оказывают температура (как высокая, так и слишком низкая), кислотность среды (pH), присутствие катализаторов окисления, аэрация, состав комплектующих материалов гидравлических систем, а также биологические факторы.

Микробная контаминация является зачастую основной причиной нестабильности свойств гидравлической жидкости. Неконтролируемый рост

микроорганизмов может вызывать биообращение, коррозию металлического оборудования и разрушение различных комплектующих материалов в гидравлической системе вплоть до остановки производственного процесса [5]. Кроме того, появляются риски для здоровья сотрудников, бактерии и грибы могут быть причиной кожных, аллергических и других заболеваний, а также источником сильнодействующих токсинов [6]. Анализ выявленных случаев микробиологических повреждений показывает, что их возникновение, характер и интенсивность развития зависят от свойств, состояния и особенностей использования (в изделии) материала, агрессивности микроорганизма-деструктора, продолжительности и условий взаимодействия пары материал – микроорганизм, а также ряда способствующих этому взаимодействию факторов [7]. Более того, процесс установления четких связей между микробиологическими условиями и механизмами коррозии все еще находится в стадии изучения.

Известно, что в биологической коррозии металлов могут участвовать представители сульфатредуцирующих (сульфатвосстанавливающих) бактерий, сульфатокисляющих бактерий и метаногенных архей, а также нитрифицирующих (окисляющих аммиак), нитратредуцирующих, ацетогенных (синтезирующих уксусную кислоту из углекислого газа и органических соединений) микроорганизмов и железобактерий [8, 9]. Согласно [10], наиболее часто в качестве репрезентативной микробиоты в жидкостях, смешивающихся с водой, встречаются: аэробные/факультативно анаэробные бактерии родов *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*; грибы родов *Candida* и *Fusarium*, а также анаэробные бактерии *Desulfovibrio*. В этом случае присутствие жизненно важных элементов и температура создают благоприятные условия для их роста и размножения.

Для оценки микробного загрязнения гидравлических жидкостей и материалов гидравлической системы могут быть использованы различные подходы. Традиционные методы, основанные на прямом высеве, – культуральный и с использованием дип-слайдов – не позволяют дать полную характеристику таксономического состава контаминирующих агентов, в том числе микроорганизмов, участвующих в повреждении металлических и неметаллических объектов. В этой связи представляется перспективным использование молекулярно-генетических методов, которые дают возможность выявить наиболее значимые группы бактерий, в том числе

обладающие повреждающей и коррозионной активностью [11, 12].

Микроорганизмы могут попасть в гидравлическую жидкость из грунта, атмосферы, с водой, используемой для ее приготовления, с рук и одежды рабочих, а также с деталей оборудования и из остатков ранее отработанной жидкости. Этим обусловлены трудности моделирования лабораторных экспериментов.

В Институте технической химии УрО РАН (филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН) разработан гидравлический концентрат Hydrotol-ITCh HFAE, предназначенный для приготовления огнестойких гидравлических жидкостей типа HFA-E. Гидравлические жидкости на основе разработанного концентрата успешно прошли лабораторные испытания. Цель настоящей работы – проведение опытно-промышленных испытаний в реальных условиях эксплуатации механизированных крепей на одном из горнорудных предприятий и определение микробной контаминации *in vitro* и *in situ*, а также в рамках отдельной задачи – определение таксономического состава микроорганизмов в эксплуатирующейся гидравлической жидкости методом метагеномного секвенирования.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объектов исследования рассмотрены гидравлические жидкости типа HFA-E на основе гидравлического концентрата Hydrotol-ITCh HFAE (Россия) и образец гидравлической жидкости импортного производства на основе концентрата Fimitol P87 AF (Carl Bechem GmbH, Германия), используемый в гидравлике механизированных шахтных крепей и изъятый непосредственно с производства. Содержание кон-

центра в обеих жидкостях составило 3 мас. %. Для приготовления гидравлических жидкостей на основе Hydrotol-ITCh HFAE использовалась вода типа Z и техническая вода, применяемая в условиях горнорудного производства (табл. 1). В табл. 1 также представлены характеристики различных типов воды, которые могут быть использованы для приготовления гидравлических жидкостей [2, 14].

Контроль микробной контаминации исследуемых образцов осуществляли в лабораторных условиях (*in vitro*) и непосредственно в условиях эксплуатации (*in situ*) с помощью дип-слайдов Easicult® Combi (Aidian Oy, Финляндия) и “БИО-КОНТРОЛЬ” (ООО “Биоконтроль ГР”, Россия) с инкубацией при температуре 30 °С в течение 48 ч для определения общего микробного числа и не менее 7 сут для определения дрожжей и плесеней. Микробную контаминацию оценивали по количеству колоний микроорганизмов (КОЕ на слайд-тесте) согласно инструкции производителя. Количество КОЕ определяли по плотности роста микроорганизмов на слайде, сравнивая его с модельными образцами, приведенными в инструкции.

Предварительную оценку микробной контаминации гидравлической жидкости на основе концентрата Fimitol P87 AF проводили бактериологическим методом. Для определения общего количества гетеротрофных бактерий отбирали пробы (100 мкл) с поверхности и из глубины образца эксплуатирующейся гидравлической жидкости. Выделение проводили по стандартной методике на чашках Петри с агаризованной средой LB (Sigma, США) или ГРМ (Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия) [15, 16]. Для выделения бактерий семейства *Pseudomonadaciae* использовали Pseudomonas CN AGAR BASE (цвет-

ТАБЛИЦА 1

Типы и свойства воды для испытаний

Тип воды	Сумма оксидов и гидроксидов щелочноземельных металлов		Жесткость		Концентрация ионов, мг/л					
	эквивалент CaCO ₃ , мг/л	(Ca + Mg), ммоль/л	°dH	°Ж*	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻
X	250	2.50	14	5	50	30	130	200	240	0
Y	358	3.58	20	7.16	61	50	113	201	145	20
V	500	5.00	28	10	100	60	130	200	480	0
Z	750	7.50	42	15	150	90	130	200	720	0
Вода с производства	170	1.70	9.2	3.32	50	10	15.5	50	50	0.5

* 1° Ж соответствует концентрации щелочноземельного элемента, численно равной 1/2 его миллимоля на литр (1° Ж = 1 мг-экв/л), по [13].

римидный agar) (Laboratorios Conda SA, Испания) дополнительно вносили глицерин 10 мл. Для выделения микроскопических грибов использовали среду Чапека (Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия). Для выделения дрожжевых грибов использовали среду Сабуро (Научно-исследовательский центр фармакологии, Санкт-Петербург, Россия). Колонии подсчитывали на 0 либо 1–5 разведениях после инкубации чашек в течение одних и трех суток при 30 °C.

Оценку качественного и количественного состава микробиоценоза проводили методом секвенирования 16S рРНК. Для выделения ДНК образцы гомогенизировали с помощью гомогенизатора FastPrep 40 (MP Biomedicals, Германия) с использованием бусин со скоростью 6.0 м/с. Центрифугировали 10 мин при 14000g для осаждения обломков клеток, затем отбирали супернатант. Выделение ДНК проводили с использованием набора FastDNA™ SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, США) согласно инструкции производителя. Подготовку библиотек для секвенирования проводили согласно протоколу производителя “16S Metagenomic Sequencing Library Preparation” (Part #15044223 Rev. B). Полимеразная цепная реакция (ПЦР) v3-v4 региона 16S рРНК проводили с помощью ген-специфичных праймеров:

337F: 5'-tcgtcggcagcgtcagatgtgtataagagacagcctacgggnggcwgcag-3'
805R: 5'-gtctcgtgggctcggagatgtgtataagagacaggac tachvgggtatctaacc-3'

Амплификацию осуществляли с помощью набора, включающего высокоточную полимеразу Q5® High-Fidelity DNA Polymerase (NEB, США). ПЦР-продукты детектировали в 1 % агарозном геле, после чего проводили очистку реакционных смесей с помощью магнитных частиц AMPure XP beads (Beckman Coulter, США) согласно протоколу подготовки библиотек. Концентрацию очищенных библиотек оценивали с помощью набора Qubit HS Assay Kit (Thermo Scientific, США) с использованием флуориметра Qubit 2.0 (Invitrogen, США). Библиотеки смешивали в эквимольном соотношении и проводили оценку качества полученного пула с помощью анализатора 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, США). При необходимости проводили дополнительную очистку с помощью магнитных частиц AMPure XP beads согласно рекомендациям производителя. Готовый пул библиотек разводили и денатурировали с помощью

реагентов набора MiSeq Reagent kit v3 (Illumina, США) и секвенировали с использованием секвенатора MiSeq (Illumina, США) согласно протоколу производителя. Метагеномные данные анализировали с помощью QIIME pipeline с использованием базы данных Greengenes v.13.8 и RDP Classifier.

Рабочие параметры гидравлических жидкостей оценивали по значению водородного показателя pH, концентрации и электропроводности. Водородный показатель pH определяли на pH-метре-иономере “ЭКСПЕРТ-001” (ООО “Эко-никс-Эксперт”, Россия) с точностью ± 0.02 . Электропроводность измеряли на лабораторном кондуктометре “АНИОН 4120” (НПП “Инфраспек-Аналит”, Россия) при комнатной температуре с погрешностью ± 2 %. Концентрацию определяли рефрактометрическим методом с использованием цифрового автоматического рефрактометра ATAGO RX-7000i (ATAGO, Япония) с максимальной допустимой погрешностью ± 0.0001 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На предварительном этапе проведен микробиологический анализ образца гидравлической жидкости на основе концентрата Fimitol P87 AF, используемого в гидравлике механизированных шахтных крепей на одном из горнорудных предприятий и изъятых непосредственно с производства. Бактериологическим методом показано, что жидкость контаминирована жизнеспособными микроорганизмами. Число бактерий составило более 10^5 клеток/мл, микроскопических грибов, включая представителей рода *Candida*, – 10^2 – 10^3 клеток/мл. Представители семейства *Pseudomonadaceae* выявлены в количестве 10^3 клеток/мл. Пример роста бактерий на разных средах приведен в табл. 2.

По данным метагеномного анализа импортного образца (рис. 1), прошедшего производственный цикл, 98.060 % реконструированных нуклеотидных последовательностей принадлежали к царству *Bacteria*, 0.870 % – к царству *Archaea*, и только 1.074 % оказались неидентифицированными. Наиболее многочисленными были бактерии филумов *Bacteroidetes* (40.0 % всех выявленных микроорганизмов), *Proteobacteria* (32.4 %) и *Firmicutes* (16.1 %). Представители филумов *Acidobacteria* и *Actinobacteria* были минорными компонентами сообщества (0.030 и 0.094 % соответственно). Всего обнаружены представители 59 семейств бактерий, принадлежащих к 40 порядкам. Филум *Bacteroidetes* вклю-

ТАБЛИЦА 2

Содержание (КОЕ/мл) гетеротрофных бактерий, псевдомонад, микроскопических грибов в эксплуатирующемся образце гидравлической жидкости на основе концентрата Fimitol P87 AF

Вариант среды/группа микроорганизмов	Уровень отбора пробы	Длительность культивирования, сут	
		1	3
Богатая питательная среда (ГРМ/LB)/гетеротрофные бактерии	Поверхностный	$(9.1 \cdot 10^5) \pm (2.3 \cdot 10^5)$	$(1.8 \cdot 10^6) \pm (0.8 \cdot 10^6)$
	Глубинный	$(4.6 \cdot 10^5) \pm (0.7 \cdot 10^5)$	$(2.1 \cdot 10^6) \pm (1.4 \cdot 10^6)$
Цетримидный агар/псевдомонады	Поверхностный	$(1.7 \cdot 10^3) \pm (0.8 \cdot 10^3)$	$(4.5 \cdot 10^3) \pm (2.2 \cdot 10^3)$
Среда Чапека/грибы	Глубинный	210.0±10.4	240.5±60.4
Среда Сабуро/дрожжи	Глубинный	130.5±70.8	1170.0±240.0

чал бактерии порядка *Bacteroidales* (100 %), среди которых наиболее распространенными семействами были *Porphyromonadaceae* (17.9 %) и *Bacteroidaceae* (0.7 %). Доля некультивируемых микроорганизмов семейства p-2534-18B5 составила 0.2 % (случаев). Представители прочих семейств филума *Bacteroidetes* (81.3 %) детектировались менее чем в 0.003 % случаев (*S24-7* и *Prevotellaceae*) или не были определены. В филуме *Firmicutes* (фирмикутов) доминировали бактерии порядка *Clostridiales* (99.9 %). Наиболее часто встречались микроорганизмы семейства *Ruminococcaceae* (67.4 %), *Veillonellaceae* (25.7 %), *Eubacteriaceae* (1.9 %). Протеобактерии были представлены преимущественно альфа- (70.3 %), бета- (19.9 %) и дельта- (7.2 %) классами. Среди альфа-протеобактерий доминировали представители семейств *Sphingomonadaceae* и *Xanthobacteraceae*, их доля в филуме составила 58.5 и 9.4 % соответственно. Среди бета-протеобактерий встречаемость представителей *Comamonadaceae* была 1.0 %, а бактерий прочих семейств – менее 0.2 %. В группе дельта-протеобактерий наиболее распространенными оказались *Desulfovibrionaceae* (6.9 %). Встречаемость гамма-протеобактерий составила лишь 2.4 % всех протеобактерий. Все идентифицированные археи относились к семейству *Methanobacteriaceae*.

По результатам испытаний в лабораторных условиях (*in vitro*) на дип-слайдах Easicult® Combi в свежих образцах воды микроорганизмы не детектировались. Вода после экспозиции 2 месяца подвергалась бактериальной контаминации вне зависимости от ее типа (табл. 3). Так, количество бактерий в жесткой воде типа Z и используемой на предприятии составило 10^3 и 10^4 КОЕ/мл соответственно, при этом грибы не регистрировались. Введение концентрата Hydrotol-ITCh HFAE в количестве 3 мас. % в воду

способствовало сохранению биологической чистоты (см. табл. 3). Рабочие параметры жидкости на основе концентрата Hydrotol-ITCh HFAE и различных образцов воды *in vitro*, такие как водородный показатель pH, концентрация и электропроводность с течением времени изменялись незначительно. Водородный показатель pH находился в диапазоне 8.45–8.35 (при использовании воды Z) и 9.25–8.95 (при использовании воды с производства), диапазоны по удельной электропроводности составили 2990–2880 и 1180–1250 мкСм/см соответственно. С течением времени значения концентрации, цвет композиций не изменялись, запах отсутствовал. Проведенные исследования показали термическую, гидролитическую стабильность и устойчивость к окислению гидравлической жидкости на основе Hydrotol-ITCh HFAE в условиях *in vitro* тестирования как на воде, используемой непосредственно на производстве, так и на жесткой воде типа Z. Добавление свежеприготовленной гидравлической жидкости на основе Hydrotol-ITCh HFAE в количестве 50/50 мас. % к образцу гидравлической жидкости на основе концентрата Fimitol P87 AF, изъятых из гидросистемы (имитация ситуации *in situ*), приводило к снижению концентрации микроорганизмов в смеси в первую очередь бактериальной микробиоты. Так, в гидравлической жидкости на основе Fimitol P87 AF визуализируется высокая плотность колоний на дип-слайде, что соответствует количеству бактерий более 10^6 КОЕ/мл (рис. 2, образец 2a). После разбавления образца гидравлической жидкостью на основе Hydrotol-ITCh HFAE плотность колоний на дип-слайде соответствовала 10^5 КОЕ/мл (см. рис. 2, образец 3a). В свежеприготовленной гидравлической жидкости Hydrotol-ITCh HFAE бактерии и грибы не обнаружены (чувствительность системы 10^3 КОЕ/мл) (см. рис. 2, образцы 1a, 1б).

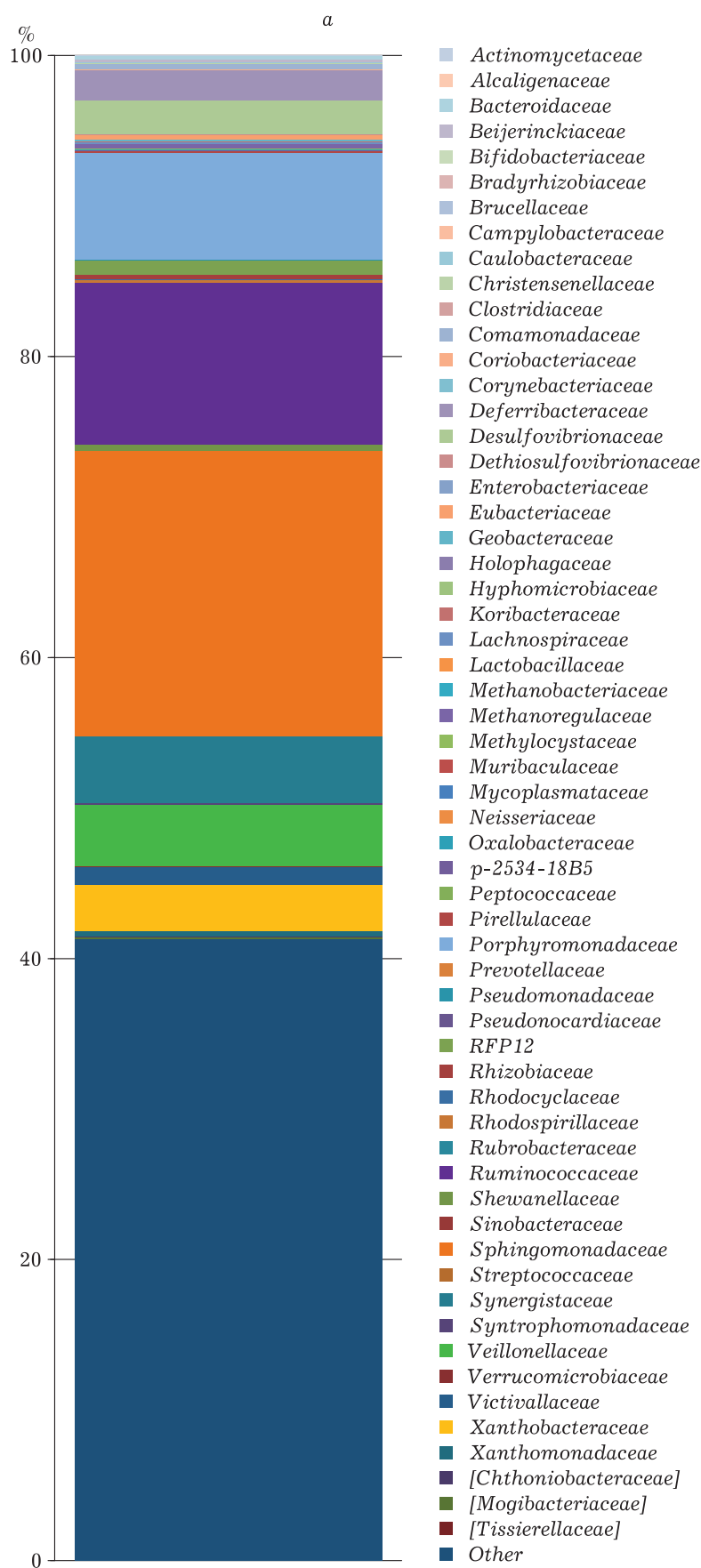


Рис. 1. (Начало).

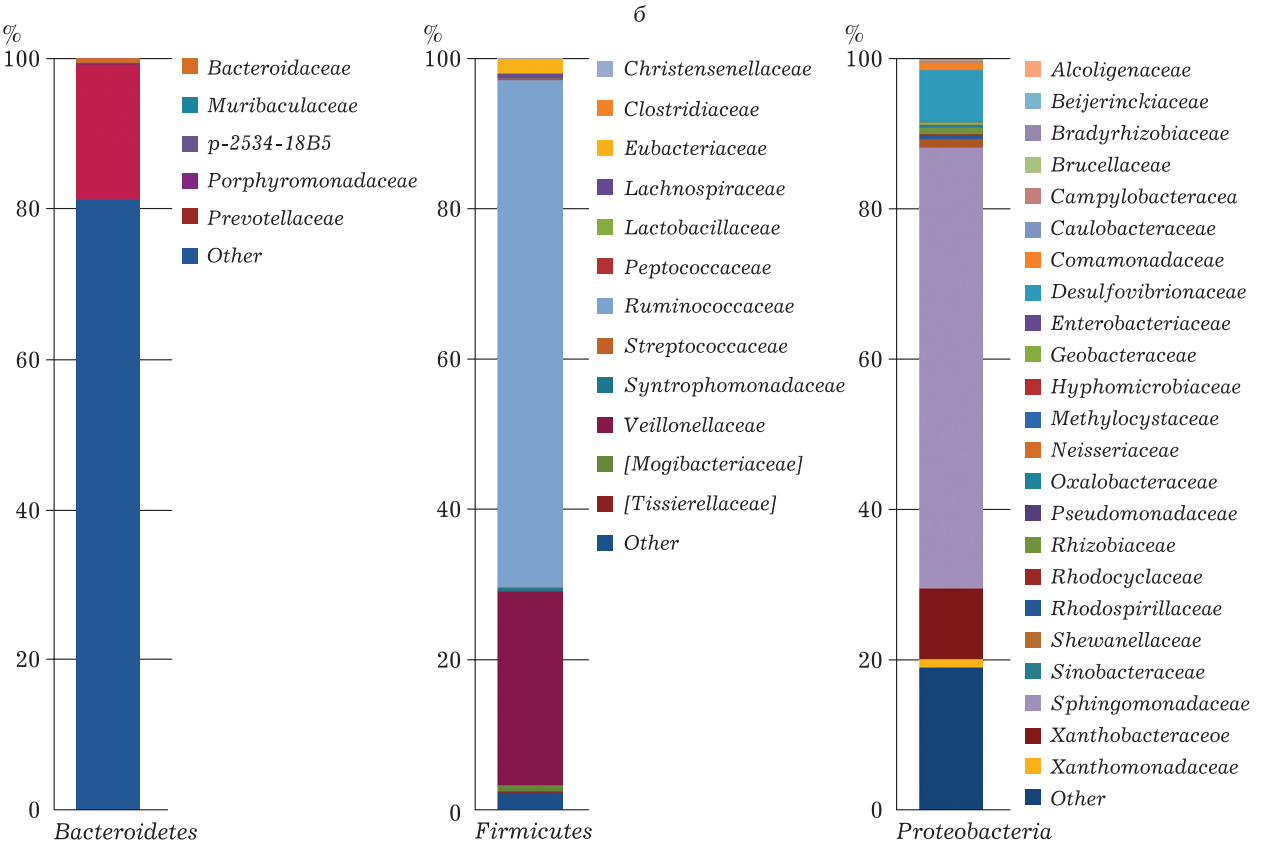


Рис. 1. (Окончание). Таксономический состав бактериальных контаминантов в образце гидравлической жидкости на основе концентрата Fimitol P87 AF (а) и распределение по семействам в основных филумах (б).

Основным этапом исследования стала оценка работоспособности гидравлической жидкости, приготовленной на основе концентрата Hydrotol-ITCh HFAE *in situ* в условиях эксплуатации на одном из горнорудных предприятий при наличии в системе остатков жидкости на основе концентрата Fimitol P87 AF (не более 20 мас. %). Контроль показателей рабочей жидкости проводили с разных мест отбора проб гидравлической системы механизированной крепи.

Проведение испытаний в реальных условиях показало сохранение основных рабочих параметров жидкости. Так, по результатам испытаний за 6 месяцев работы, диапазон значений pH практически не менялся и составил: 8.0–8.7 (силовая гидравлика); 8.2–8.8 (магистраль гидрокрепи); 8.3–8.5 (перед сливным фильтром) (рис. 3). Показатели электропроводности за 6 месяцев работы образца гидравлической жидкости на основе концентрата Hydrotol-ITCh HFAE также

ТАБЛИЦА 3

Содержание (КОЕ/мл) микроорганизмов (бактерии/грибы) в образцах гидравлической жидкости в условиях *in vitro* на слайд-тестах Easicult® Combi

Экспозиция	Образец			
	Вода типа Z	Вода с производства	ГЖ на основе Fimitol P87 AF	ГЖ на основе Hydrotol-ITCh HFAE
Количество бактерий, КОЕ/мл				
1 час	Отс.	Отс.	Отс.	Отс.
2 месяца	10 ³	10 ⁴	Отс.	Отс.
Количество грибов, КОЕ/мл				
1 час	Отс.	Отс.	Отс.	Отс.
2 месяца	Отс.	Отс.	Отс.	Отс.

Примечание. ГЖ – гидравлическая жидкость; отс. – отсутствуют.

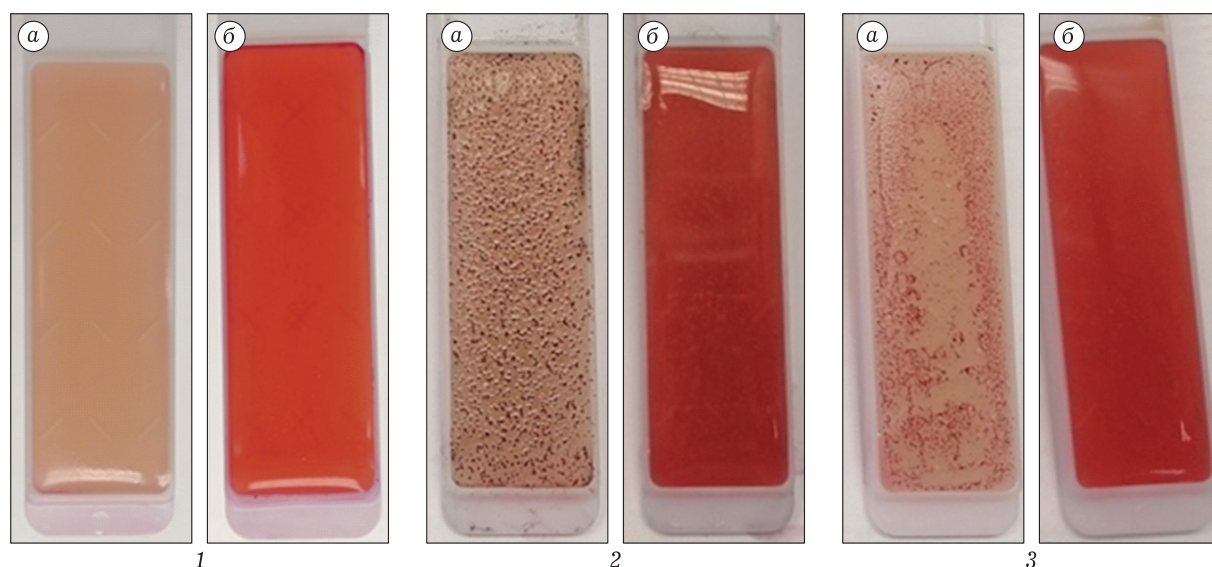


Рис. 2. Фотографии дип-слайдов Easicult® Combi, использованных для оценки количества бактерий (а) и грибов (б) в образцах: 1 – гидравлическая жидкость Hydrotol-ITCh HFAE; 2 – гидравлическая жидкость на основе концентрата Fimitol P87 AF, изъятая из гидросистемы; 3 – смесь гидравлической жидкости на основе концентрата Fimitol P87 AF, изъятая из гидросистемы, и гидравлической жидкости на основе концентрата Hydrotol-ITCh HFAE.

свидетельствуют об отсутствии снижения противокоррозионных свойств. Диапазон значений по удельной электропроводности составил, мкСм/см: 965–1350 (силовая гидравлика); 930–1200 (магистраль гидрокрепи); 1000–1100 (перед сливным фильтром) (см. рис. 3). При этом значения концентраций проб гидравлической жидкости, отобранных из разных мест, находились в диапазоне 3.0–3.2 % (см. рис. 3).

Определено содержание микроорганизмов в гидравлической жидкости системы механизированной шахтной крепи (см. рис. 3). По результатам тестов с использованием дип-слайдов “БИОКОНТРОЛЬ” за 6 месяцев работы количество бактерий в большинстве проб находилось в диапазоне 10^4 – 10^6 КОЕ/мл, количество дрожжевых грибов не превышало 10^3 КОЕ/мл. Следует отметить, что показатели бактериальной контаминации рабочей жидкости, отобранной из разных мест, существенно не различались. Различия, выявленные при определении количества грибов, также не были статистически достоверными.

Стоит отметить, что работы по изучению биоповреждений смазочно-охлаждающих жидкостей и производственных поверхностей ведутся с 1970-х годов. Взаимовлияние технических параметров и микробной нагрузки, смешиваемых с водой гидравлических концентратов, лишь недавно стало предметом научных исследований [11, 17–19]. Идентификация основных микроорганизмов-деструкторов традиционными

микробиологическими методами затруднена, поскольку подсчеты КОЕ на чашках Петри и дип-слайды применяются главным образом для определения быстрорастущих бактерий и не позволяют учесть медленно растущие микроорганизмы, что свидетельствует о необходимости использования молекулярно-генетических методов при изучении микробной контаминации. Основная часть исследований, связанная с идентификацией микроорганизмов, контаминирующих производственные системы, касается изучения биокоррозии различных материалов (металл, бетон, стекло и др.). Более того, в мировой литературе информация о составе микроорганизмов гидравлических жидкостей, используемых в гидравлических системах шахт, ограничена.

Коррозия металлов и металлоконструкций под действием сульфатредуцирующих бактерий встречается в технике наиболее часто по сравнению с другими видами биокоррозии. Среди литотрофных бактерий чаще всего коррозию металлов связывают с деятельностью тионовых бактерий рода *Tiobacillus*, окисляющих серу и соединения серы до серной кислоты; железобактерий родов *Gallionella* и *Sperotilus*, окисляющих Fe(II) до Fe(III), а также бактерий родов *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum*, которые вызывают биоповреждения в анаэробных условиях. Представители последней группы были обнаружены в образце гидравлической жидкости, используемой на производстве, однако оказались лишь незначительными членами сообще-

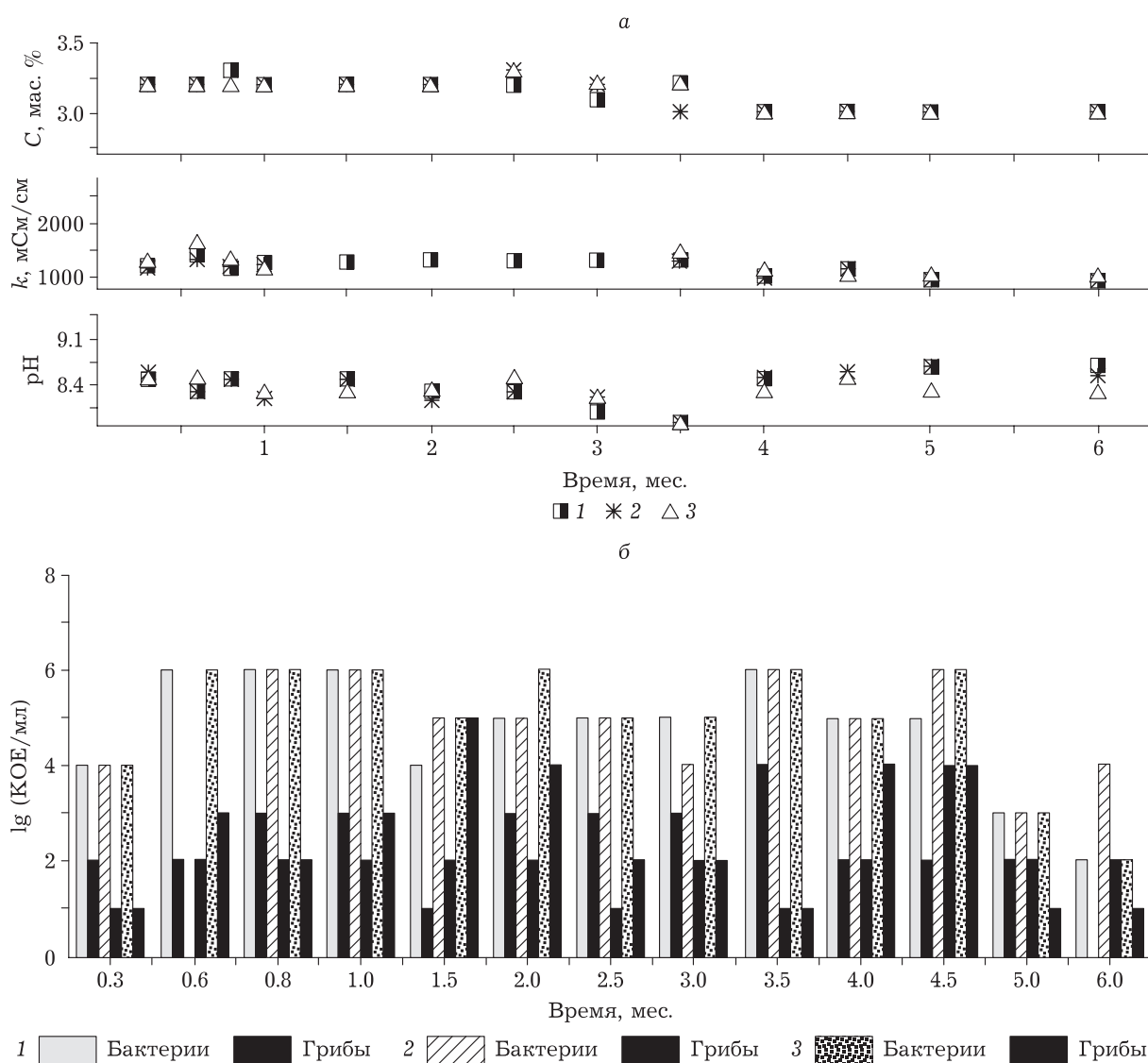


Рис. 3. Показатели рабочей жидкости *in situ* на гидравлике механизированной шахтной крепи горнорудного производства с разных мест отбора: 1 – силовая гидравлика (гидростойка); 2 – магистраль гидрокрепи в лаве; 3 – перед сливным фильтром. Обозн.: C – концентрация гидравлической жидкости, мас. %; k – удельная электропроводность; pH – водородный показатель; КОЕ/мл – число колониеобразующих единиц.

ства (*Desulfovibrio* – 2.2 % от общего метагенома). О наличии корреляции между образованием сульфидов и скоростью коррозии или инициированием коррозии упоминается в ряде работ [20–22]. По мнению других исследователей, общее количество сульфатредуцирующих бактерий не обязательно коррелирует со степенью коррозии [20, 23–25]. Представители тионовых бактерий (*Thiobacillus* spp.), нитрифицирующих бактерий (включающие виды родов *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrospira* и *Nitrococcus*) и “классических” железобактерий (включающих виды родов *Gallionella*, *Leptothrix*, *Crenothrix*, *Siderocapsa* (*Arthrobacter*)) данным методом нами

идентифицированы не были, но, учитывая некоторое количество нереконструированных последовательностей, можно предположить их присутствие. Некоторые литотрофные микроорганизмы могут расти в среде с металлическим железом (Fe^0) в качестве единственного донора электронов. Метаногены получают энергию за счет окисления Fe^0 , сопряженного с восстановлением CO_2 , вызывая повреждения металла. Было показано, что геном одного из видов *Methanobacteriaceae* кодирует вызывающую коррозию внеклеточную [NiFe]-гидрогеназу [26]. Следует отметить, что метаногенные археи составляли только 0.867 % микробной популяции исследуемого образца.

Создавать условия для коррозии металла могут различные представители гетеротрофных бактерий, которые активно развиваются в ассоциациях с сульфатредуцирующими или железобактериями. Кроме того, эти бактерии, например псевдомонады, способны переключаться с кислородного дыхания на нитратное и сульфатное, что делает их непосредственными участниками биоповреждения. Бактерии семейств *Pseudomonadaceae* и *Enterobacteriaceae* также были выявлены в исследованном образце, но составили лишь 0.02 % от всего биоразнообразия.

Присутствие микроорганизмов в гидравлической жидкости может приводить не только к изменениям в локальной электрохимической среде, но и к колонизации металлических поверхностей путем образования биопленки [27, 28]. По литературным данным, кластер генов окисления железа (*iro*) описан для бактерий 69 родов основных филумов: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Cyanobacteria*, *Proteobacteria* и *Firmicutes*. Интересно, что в филуме *Proteobacteria* этот ген может встречаться у представителей рода *Caulobacter* (семейство *Caulobacteraceae*), который относят к железовосстанавливающим бактериям, и рода *Rhodospirillum rubrum* (семейство *Rhodospirillaceae*). В дополнение к этим двум родам альфа-протеобактерий в семействе *Sphingomonadaceae* были идентифицированы также *Novosphingobium* и *Sphingomonas*, содержащие данный кластер. Первые были выделены из биопленок с поверхностей проржавевших бетонных коллекторов [29], а вторые – из зоны сварных соединений нержавеющей стали [30]. Среди бета-протеобактерий *iro*-кластер описан для представителей семейств *Burkholderiaceae* и *Comamonas*. Большинство из этих микроорганизмов были идентифицированы в изученном образце, который прошел реальные условия эксплуатации.

Лабораторные эксперименты не позволяют точно воспроизвести производственные условия. На практике имеет место взаимное влияние материалов гидравлической системы, синергические эффекты контаминирующих микроорганизмов и воздействие материалов и среды на микроорганизмы. Этим обусловлена высокая частота отбора проб в разных частях системы, в которых условия окружающей среды, такие как уровень кислорода, скорость потока, свойства поверхностей для колонизации, соответствующее время удержания, влияют на разнообразие и количество клеток. Следствием этого является неоднородность среды, что определяет на-

блюдаемые различия в содержании микроорганизмов в разных точках отбора (см. рис. 3). Следует отметить, что наличие микроорганизмов еще не служит свидетельством микробиологического повреждения материала. В частности, присутствие в пробе бактерий в количестве 10^5 клеток в 1 мл не вызывает потери эксплуатационных свойств жидкостей [8]. Однако присутствие микроорганизмов в высокой концентрации может вызывать изменение цвета, запаха, образование характерных осадков и изменение некоторых физико-химических показателей. В реальных условиях эксплуатации это создает агрессивную среду и приводит к увеличению циркуляции и необходимости дозаправки или смены гидравлической жидкости. В процессе жизнедеятельности микроорганизмы могут выделять кислоты, которые нейтрализуют щелочные компоненты, входящие в состав гидравлической жидкости, и снижать эффективность противокоррозионных добавок. В итоге при значительном падении pH происходит деактивация эмульгаторов, и гидравлическая жидкость теряет комплекс присущих ей свойств. В таких случаях ранее на исследуемом руднике для обеспечения бесперебойной работы механических крепей при использовании рабочей гидравлической жидкости импортного производства значение pH поддерживалось периодическим добавлением концентрата Fimitol P87 AF. В случае использования гидравлической жидкости на основе концентрата Hydrotol-ITCh HFAE при одинаковом времени эксплуатации дозаправки концентрата, как и применения специальных дезинфицирующих и очищающих средств, не потребовалось.

Таким образом, огнестойкая гидравлическая жидкость на основе концентрата Hydrotol-ITCh HFAE является конкурентоспособным продуктом и обладает стабильными физико-химическими свойствами в условиях эксплуатации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам опытно-промышленных испытаний в реальных условиях эксплуатации образца гидравлической жидкости на основе концентрата Hydrotol-ITCh HFAE (3 мас. %) при наличии в системе остатков жидкости на основе концентрата Fimitol P87 AF установлено, что в течение 6 месяцев работы диапазон значений pH, электропроводности, концентрации и бактериологической чистоты значительно не менялся, при этом дозаправки, как и приме-

нения специальных дезинфицирующих и очищающих средств, не требовалось.

Бактериологическим методом и методом микробного секвенирования изучен микробный состав гидравлической жидкости на основе концентрата Fimitol P87 AF, подвергавшейся эксплуатации в механизированных крепях горнорудного предприятия. Молекулярно-генетические методы позволили детектировать широкий спектр бактериальных ассоциантов с различными типами обмена веществ, в том числе анаэробные сульфатредуцирующие бактерии, участвующие в биологической коррозии металлов.

Таким образом, обобщение лабораторных и опытно-промышленных испытаний показывает, что разработанная рецептура гидравлического концентрата Hydrotol-ITCh HFAE и гидравлическая жидкость типа HFA-E (3 мас. %) на его основе пригодна для использования в механизированных крепях и, несмотря на контаминированную гидравлическую систему, обеспечивает в условиях эксплуатации сохранение физико-химических свойств гидравлической жидкости в рабочих параметрах. В дальнейшем полученные сведения помогут спрогнозировать вероятность возникновения биоповреждений, что позволит разработать комплекс мер для предотвращения биодеградации гидравлической жидкости на механизированных крепях, обеспечивая бесперебойную работу и продлевая срок эксплуатации гидравлического оборудования на предприятии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- ГОСТ ISO 6743-4-2021. Материалы смазочные, промышленные масла и родственные продукты (класс L). Классификация. Часть 4. Группа H (гидравлические системы). М.: Стандартинформ, 2021. 14 с.
- Doc. No. 4746/10/91 DE, 7th Luxemburg Report – Requirements and Tests of Fire-Resistant Hydraulic Fluids for Hydrostatic and Hydrokinetic Power Transmission, European Commission, Luxemburg, 1994. 339 p.
- ГОСТ Р 51232-98. Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества. М.: Росстандарт, 2005. 21 с.
- Негорючие теплоносители и гидравлические жидкости: Справочное руководство / Под ред. А. М. Сухотина. Л.: Химия, 1979. 360 с.
- Enning D., Venzlaff H., Garrelfs J., Dinh H. T., Meyer V., Mayrhofer K., Hassel A. W., Stratmann M., Widdel F. Marine sulfate-reducing bacteria cause serious corrosion of iron under electroconductive biogenic mineral crust // *Environ. Microbiol.* 2012. Vol. 14, No. 7. P. 1772–1787.
- Barth M. Belastung und Beanspruchung durch biologische Arbeitsstoffe bei Kühlschmiermittel-Exponierten in der Metallbearbeitung: Dr.-Ing. Dissertation, Dusseldorf, 2003. 114 p.
- Варченко Е. А. Особенности оценки биоповреждений и биокоррозии материалов в природных средах // *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*. 2014. № 104. С. 1987–2004.
- Андреев Е. И., Билай В. И., Коваль Э. З., Козлова И. А. Микробная коррозия и ее возбудители / Отв. ред. В. В. Смирнов. Киев: Наук. думка, 1980. 287 с.
- Защита от коррозии, старения и биоповреждений машин, оборудования и сооружений: Справочник, в 2-х т. / Под ред. А. А. Герасименко. М.: Машиностроение, 1987.
- Siegert W. The use of biocides with regard to the new biocidal products directive – Future aspects // *Ind. Lubr. Tribol.* 2002. Vol. 54, No. 3. P. 136–140.
- Koch T., Passman F., Rabenstein A. Comparative study of microbiological monitoring of water-miscible metalworking fluids // *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2015. Vol. 98. P. 19–25.
- Eckert R. B., Skovhus T. L. Advances in the application of molecular microbiological methods in the oil and gas industry and links to microbiologically influenced corrosion // *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2015. Vol. 126. P. 169–176.
- ГОСТ 31865-2012. Вода. Единица жесткости. М.: Стандартинформ, 2019. 7 с.
- New Techniques and Technologies in Thin Coal Seam Exploitation: International Mining Forum 2011 / Dyczko A., Kicki J., Myszkowski M., Stopa Z., Tor A. (Eds.). CRC Press, 2011. 319 p.
- Методы почвенной микробиологии и биохимии: Учебное пособие / под ред. Д. Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.
- Теппер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И. Практикум по микробиологии. М.: Дрофа, 2004. 256 с.
- Rabenstein A., Koch T., Remesch M., Brinksmeier E., Küver J. Microbial degradation of water miscible metal working fluids // *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2009. Vol. 63. P. 1023–1029.
- Passman F. J., Egger G. L., Hallahan S., Skinner B. W., Deschepper M. Realtime testing of bioburdens in metalworking fluids using adenosine triphosphate as a biomass indicator // *Tribol. Trans.* 2009. Vol. 52. P. 788–792.
- Brinksmeier E., Garbrecht M., Heinzel C., Koch T., Eckbrecht J. Current approaches in design and supply of metalworking fluids // *Tribol. Trans.* 2009. Vol. 52. P. 591–601.
- Angell P., Urbanic K. Sulphate-reducing bacterial activity as a parameter to predict localized corrosion of stainless alloys // *Corros. Sci.* 2000. Vol. 42, No. 5. P. 897–912.
- Kuang F., Wang J., Yan L., Zhang D. Effects of sulfate-reducing bacteria on the corrosion behavior of carbon steel // *Electrochim. Acta.* 2007. Vol. 52, No. 20. P. 6084–6088.
- Païssé S., Ghiglione J.-F., Marty F., Abbas B., Gueuné H., Sanches Amaya J. M., Muyzer G., Quillet L. Sulfate-reducing bacteria inhabiting natural corrosion deposits from marine steel structures // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2013. Vol. 97. P. 7493–7504.
- Ramsing N. B., Kühl M., Jørgensen B. B. Distribution of sulfate-reducing bacteria, O₂ and H₂S in photosynthetic biofilms determined by oligonucleotide probes and microelectrodes // *Appl. Environ. Microbiol.* 1993. Vol. 59. No. 11. P. 3840–3849.
- Foti M., Sorokin D. Y., Lomans B., Mussman M., Zacharova E. E., Pimenov N. V., Gijs Kuenen J., Muyzer G. Diversity, activity, and abundance of sulfate-reducing bacteria in saline and hypersaline soda lakes // *Appl. Environ. Microbiol.* 2007. Vol. 73. No. 7. P. 2093–2100.
- Kondo R., Shigematsu K., Butani J. Rapid enumeration of sulphate-reducing bacteria from aquatic environments us-

- ing real-time PCR // Plankton and Benthos Research. 2008. Vol. 3, No. 3. P. 180–183.
- 26 Tsurumaru H., Ito N., Mori K., Wakai S., Uchiyama T., Iino T., Hosoyama A., Ataku H., Nishijima K., Mise M., Shimizu A., Harada T., Horikawa H., Ichikawa N., Sekigawa T., Jinno K., Tanikawa S., Yamazaki J., Sasaki K., Yamazaki S., Fujita N., Harayama S. An extracellular [NiFe] hydrogenase mediating iron corrosion is encoded in a genetically unstable genomic island in *Methanococcus maripaludis* // Scientific Reports. 2018. No. 8. Art. 15149.
 - 27 Lewandowski Z., Wayne Dickinson W., Leey W. Electrochemical interactions of biofilms with metal surfaces // Water Sci. Technol. 1997. Vol. 36. P. 295–302.
 - 28 Videla H. A., Herrera L. K. Microbiologically influenced corrosion: Looking to the future // Int. Microbiol. 2005. Vol. 8. P. 169–180.
 - 29 Satoh H., Odagiri M., Ito T., Okabe S. Microbial community structures and in situ sulfate-reducing and sulfur-oxidizing activities in biofilms developed on mortar specimens in a corroded sewer system // Water Res. 2009. Vol. 43. P. 4729–4739.
 - 30 Takeuchi M., Hamana K., Hiraishi A. Proposal of the genus *Sphingomonas sensu stricto* and three new genera, *Sphingobium*, *Novosphingobium* and *Sphingopyxis*, on the basis of phylogenetic and chemotaxonomic analyses // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2001. Vol. 51. P. 1405–1417.