

УДК 547.541.2

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2023.3.12

ИССЛЕДОВАНИЕ БАКТЕРИЦИДНЫХ СВОЙСТВ АЛКИЛГАЛОГЕНИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПРОИЗВОДНЫХ АМИДОАМИНА КИСЛОТ СОЕВОГО МАСЛА**© В. М. Аббасов, Д. В. Агамалиева, Ф. Дж. Гурбанова,
И. Г. Аюбов*, Е. А. Абдулазимова***Институт нефтехимических процессов
Министерства науки и образования Азербайджана им. Ю. Г. Мамедалиева
Азербайджанская Республика, AZ 1025 г. Баку, пр. Ходжалы, 30.***Email: ilgar.ayubov@mail.ru*

Представленная статья посвящена синтезу алкилгалогенидных комплексов амидоамина, полученного на основе кислот соевого масла и полиэтиленполиамина, и исследованию их бактерицидных свойств против сульфатредуцирующих бактерий. На первой стадии гидролизом смеси кислот растительных масел с 96%-ным выходом были выделены кислоты соевого масла, их строение подтверждено методом ИК-спектроскопии и определены их физико-химические свойства. На следующей стадии на основе кислот соевого масла и полиэтиленполиамина с 95%-ным выходом был синтезирован амидоамин, его строение подтверждено методом ИК-спектроскопии. Осуществлен синтез комплексов амидоамина и алкилгалогенидов (гексилбромид, пентилиодид, пентилбромид) с высоким выходом (95%, 95% и 97% соответственно), строение комплексов подтверждено методом ИК-спектроскопии, определены их физико-химические показатели. Приготовлены 20%-ные растворы полученных алкилгалогенидных комплексов в изопропиловом спирте, изучены их бактерицидные свойства при различных 5, 25 и 50 мг/л концентрациях. Исследования проводили в термостате в питательной среде Posgeyt B при температуре 32 °С в течение 15 дней. На основе исследований установлено, что 20%-ный раствор пентилиодидного комплекса в изопропиловом спирте (N-14) при концентрации 50 мг/л проявляет 99.2%-ный эффект, а 20%-ные растворы гексил- и пентилбромидного комплексов в изопропиловом спирте (N-13 и N-15) при концентрации 50 мг/л проявляют 100%-ный бактерицидный эффект, полностью подавляя жизнедеятельность сульфатредуцирующих бактерий.

Ключевые слова: *кислоты соевого масла, полиэтиленполиамин, пентилбромид, пентилиодид, гексилбромид, амидоамин, сульфатредуцирующие бактерии.*

Введение

В настоящее время в нашей стране, а также других нефтепромысловых странах основную часть нефти в основном добывают закачиванием в нефтескважины различные воды. При этом скважины заражаются сульфатредуцирующими и другими видами бактерий (СРБ). Это в свою очередь стимулирует возникновение микробиологической коррозии. Основным источником микробиологической коррозии являются сульфатредуцирующие бактерии. Сульфатредуцирующие микроорганизмы (СРМ) или сульфатредуцирующие прокариоты (СРП) представляют собой группу сульфатредуцирующих бактерий, которые при анаэробном дыхании восстанавливают сульфат-ионы SO_4^{2-} до сульфидов H_2S . Распространение микробов на твердой поверхности субстрата остается актуальной проблемой различных областей науки. Таким образом, в процессе нефтедобычи и транспортировке нефти микробы слипаются на поверхности конструкций, повреждают субстраты и становятся причиной биокоррозии [1].

Способность метана окисляться до бикарбоната в присутствии сульфата может препятствовать процессу его получения и транспортировки. Это негативно влияет на развитие промышленности. Наиболее эффективным методом защиты от микробиологической коррозии является разработка ингибиторов-бактерицидов [2–5].

В настоящее время в ряде стран проводятся исследования в области разработки и применения ингибиторов коррозии. Однако требования к ингибиторам, выдвигаемых нефтегазовой промышленностью до сих пор полностью не обеспечены. Поэтому разработка эффективных ингибиторов комплексного действия на основе местного сырья, способных предохранять нефтяное оборудование от коррозии, возникающей при аномальных концентрациях H_2S и CO_2 , а также при высоких концентрациях СРБ [5–9], крайне актуальна.

Экспериментальная часть

Аналитические методы. ИК-спектры синтезированных соединений сняты на спектрометре “ALFA” IQ-Figure немецкой фирмы «Bruker» в интервале длин волн 400–4 000 cm^{-1} , показатель преломления определяли на приборе Abbemat 500, плотность – на приборе DMA 4500 M по методике ASTM D5002, температуру застывания определяли по ГОСТ 20287-91.

Для выделения кислот соевого масла из смеси растительных масел реакцию проводили при нагревании в трехгорлой колбе, снабженной термометром, механической мешалкой до полного окончания гидролиза.

После нагревания взятого в качестве исходного сырья соевого масла до температуры 50 °С в реакционную среду по каплям добавляют 15–30%-ный раствор NaOH. Реакцию гидролиза соевого масла в щелочной среде проводят в течение 2-х ч в интервале температур 60–80 °С при интенсивном перемешивании и получают натриевую соль кислот соевого масла. На следующем этапе полученную соль обрабатывают 30%-ным раствором HCl и отделяют кислоты соевого масла, избытком щелочи промывают кислоту. Затем оставшуюся в составе кислоты воду выпаривают и в чистом виде с 96%-ным выходом отделяют кислоты соевого масла.

При синтезе амидоамины кислоты соевого масла (КСМ) помещают в круглодонную колбу, а полиэтиленполиамин (РЕРА) – в воронку. При достижении температуры колбы 70–80 °С в нее добавляют полиэтиленполиамин. Реакция протекает в течение 2-х ч в интервале температур 130–190 °С с выделением 1 моля воды. В ходе опыта образуется амидоамин кислот соевого масла и полиэтиленполиамин. Полученный амидоамин имеет темно-желтый цвет и представляет собой вязкую жидкость, способную растворяться в изопропиловом спирте. Выход амидоамины составляет 95%.

Для получения неорганических анионных комплексов использовали алкилгалогениды C₅H₁₁I, C₅H₁₁Br, C₆H₁₃Br. Для синтеза берут 1 моль амидоамины, растворяют в изопропиловом спирте и добавляют к нему 3 моля алкилгалогенида. Реакция протекает при температуре 80 °С в течение 3-х ч. В качестве растворителя используют 25 мл изопропилового спирта (IPS). В результате реакции выход комплексов составил: для (N-13) – 95%, для – 97%, для комплекса C₅H₁₁Br (N-15) – 95% [8]. Определены физико-химические показатели синтезированных комплексов и представлены в табл. 1.

Таблица 1

Физико-химические свойства комплексов

Показатели	Прибор	Метод	Образец		
			N-13	N-14	N-15
Плотность, г/см ³ при 20 °С	DMA 4500 M	ASTM D 5002	550		
Показатель преломления при 20 °С	AbbeMat 500	Методика			
Температура застывания, °С	Методика	ГОСТ 20287-91	Не застывает при минус 60	Не застывает при минус 60	Не застывает при минус 60

Анализ результатов

Амидоамин синтезируют на основе КСМ и ПЭПА. Реакция синтеза амидоамины протекает по нижеприведенной схеме:

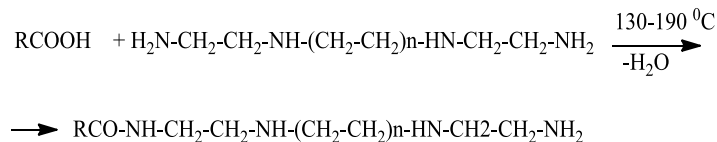


Схема 1

Структура и состав синтезированного амидоамины подтверждены методом ИК-спектроскопии и показаны ниже:

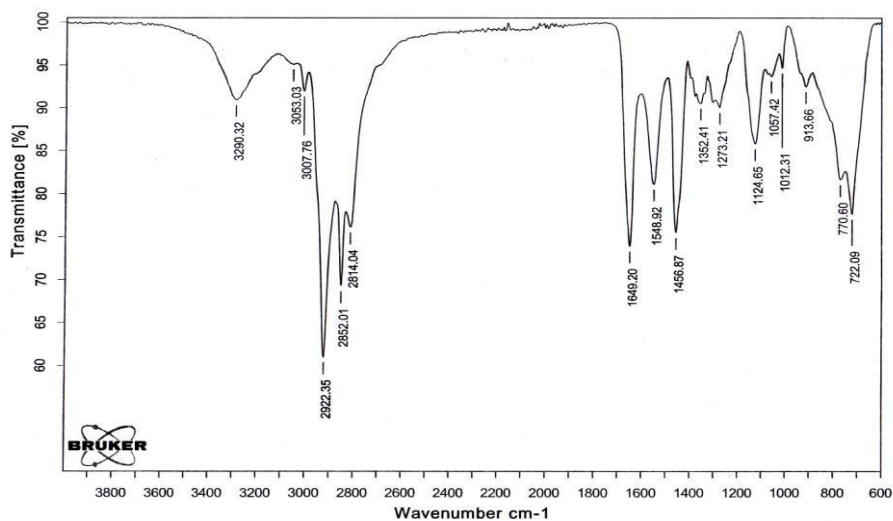


Рис. 1. ИК-спектр амидоамины, полученного на основе КСМ и ПЭПА.

В ИК-спектре амидоамина, полученного на основе КСМ и ПЭПА, наблюдаются следующие полосы поглощения: 2814, 2952, 2922 см^{-1} – валентные колебания связи С-Н групп CH_3 и CH_2 и 722, 1352, 1456 см^{-1} – их деформационные колебания, 3 007 см^{-1} – валентные колебания группы $=\text{CH}_2$, 3290 см^{-1} – валентные колебания связи N-H, 1548 см^{-1} – ее деформационные колебания, 1649 см^{-1} – валентные колебания связи С=О амидной группы.

Затем реакцией полученных амидоаминов с алкилгалогенидами синтезированы неорганические анионные комплексы. Реакцию получения схематически можно представить в следующем виде:

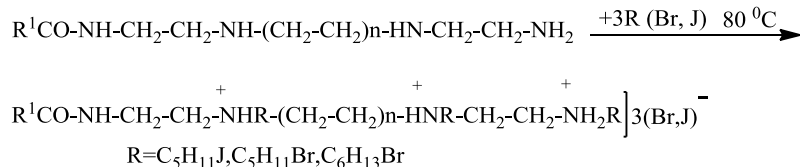


Схема 2

Структура и состав синтезированных алкилгалогенидных комплексов подтверждены методом ИК-спектроскопии и показаны ниже.

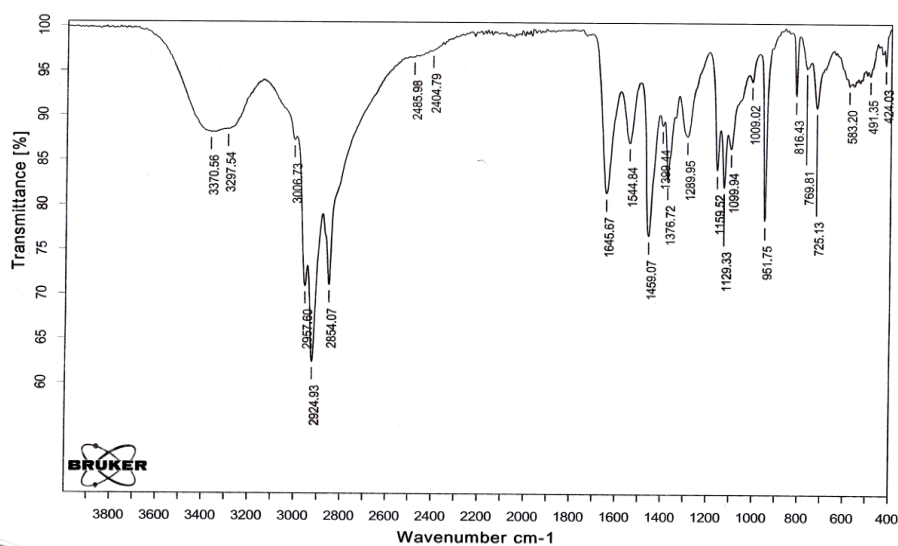


Рис. 2. ИК-спектр комплекса амидоамина, полученного на основе КСМ и ПЭПА с $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{Br}$.

В ИК-спектре комплекса амидоамина, полученного на основе кислот соевого масла и ПЭПА с $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{Br}$ обнаружены следующие полосы поглощения: 2854, 2924, 2957 см^{-1} – валентные и 725, 1376, 1459 см^{-1} – деформационные колебания связи С-Н групп CH_3 и CH_2 ; 3006 см^{-1} – валентные колебания $=\text{CH}_2$ группы; 3297, 3370 см^{-1} – валентные колебания связи N-H; 1544 см^{-1} – их деформационные колебания; 1645 см^{-1} – валентные колебания связи С=О амидной группы; 2485, 2404 см^{-1} – аммонийные полосы связи $\text{N}^+\text{-H}$.

В ИК-спектре комплекса амидоамина, полученного на основе кислот соевого масла и ПЭПА с $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{J}$, обнаружены следующие полосы поглощения: 2854, 2925, 2959 см^{-1} – валентные и 727, 1377, 1459 см^{-1} – деформационные колебания связи С-Н групп CH_3 и CH_2 ; 3006 см^{-1} – валентные колебания $=\text{CH}_2$ группы; 3380 см^{-1} – валентные колебания связи N-H; 1544 см^{-1} – их деформационные колебания, 1642 см^{-1} – валентные колебания связи С=О амидной группы, 2460, 2604 см^{-1} – аммонийные полосы связи $\text{N}^+\text{-H}$.

В ИК-спектре комплекса амидоамина, полученного на основе кислот соевого масла и ПЭПА с $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{Br}$ обнаружены следующие полосы поглощения:

2854, 2924, 2957 см^{-1} – валентные и 724, 1376, 1459 см^{-1} – деформационные колебания связи С-Н групп CH_3 и CH_2 , 3007 см^{-1} – валентные колебания $=\text{CH}_2$ группы, 3365 см^{-1} – валентные колебания связи N-H, 1544 см^{-1} – их деформационные колебания; 1646 см^{-1} – валентные колебания связи С=О амидной группы; 2443 см^{-1} – аммонийные полосы связи $\text{N}^+\text{-H}$.

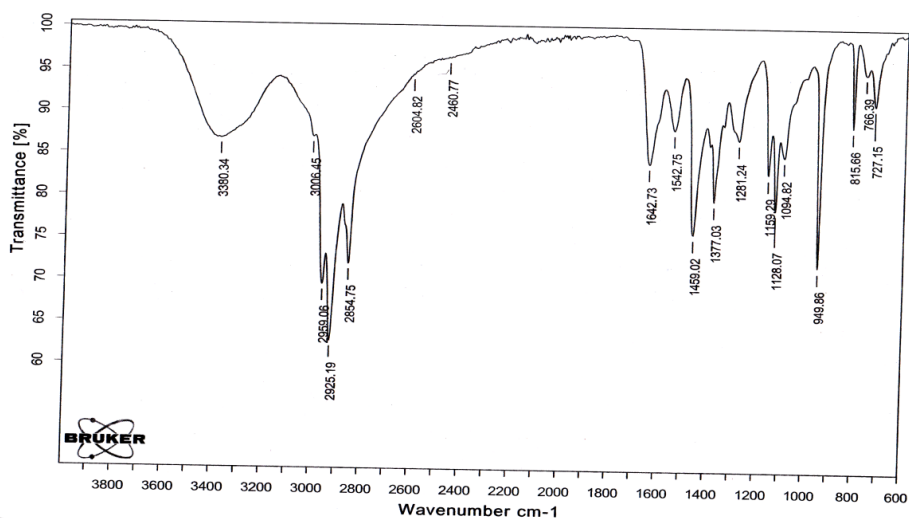


Рис. 3. ИК-спектр комплекса амидамина, полученного на основе КСМ и ПЭПА с $C_5H_{11}J$.

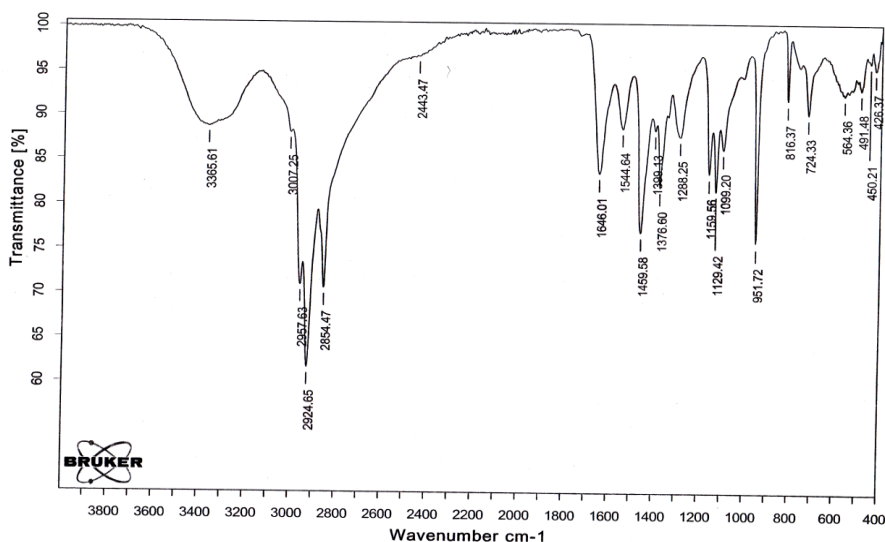


Рис. 4. ИК-спектр комплекса амидамина, полученного на основе КСМ и ПЭПА с $C_6H_{13}Br$.

Для исследования бактерицидного влияния синтезированных комплексов использовали нижеприведенный метод.

Ингибитор-бактерицидные свойства определяли по ГОСТ 18963-80В ходе исследований использовали штамм 1143. СРБ типа *Desulfovibrio desulfuricans*. В качестве питательной среды для бактерий использовали питательную среду Postqeyt В [11].

Для приготовления питательной среды Postqeyt В необходимые компоненты рассчитывали на 1 л воды. рН среды должен быть в интервале 7.0–7.5. Питательная среда Postqeyt В имеет следующий состав:

- дигидроортофосфат калия (KH_2PO_4) – 0.5 г (ГОСТ 4198-75);
- сульфат магния ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) – 2 г (ГОСТ 4523-77);
- хлорид аммония (NH_4Cl) – 1.0 г (ГОСТ 3773-78);
- хлорид натрия ($NaCl$) – 2 г (ГОСТ 4233-77).

Для оптимизации развития СРБ в питательную среду Postqeyt В добавляют следующие добавки:

- сульфат железа $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (5%-ный раствор в 2%-ной соляной кислоте) – 0.5–2 мл (ГОСТ 4148-78);
- бикарбонат натрия $NaHCO_3$ (5%-ный водный раствор) – 1 мл (ГОСТ 4201-79);
- раствор кристаллического сульфида натрия ($Na_2S \cdot 9H_2O$) в 1 %-ном растворе Na_2CO_3 – 1 мл (ГОСТ 2053-77).

Для определения СРБ использовали 20 мл-вые предварительно стерилизованные стеклянные пробирки [12]. Для определения количества бактерий в среде, не содержащей ингибиторов, бактерии сначала разбавляли, высевали и выдерживали в термостате (ТУ 64-1-1382-83) при температуре 30–32 °С в течение инкубационного периода 7–14 дней. Определено, что количество бактерий в среде без ингибиторов, взятой за контроль, составляет $n = 10^8$.

Затем в среду вносили синтезированные комплексы в концентрациях 5, 25 и 50 мг/л и выдерживали в термостате в течение 7–14 суток при температуре 30–32 °С. Бактерицидный эффект реагента определяли по количеству H_2S , образующегося в среде. Образование H_2S определяли йодометрическим титрованием. Комплексы препятствовали развитию чужеродных микроорганизмов в исследуемой среде.

Приготовление питательной среды: После стерилизации всех растворов к раствору реагентов добавляют 30% стерильной пластовой воды. Смесь нагревают до кипения и быстро охлаждают под водой, тем самым удаляя растворенный кислород из питательной среды. Затем добавляют добавки – жидкий экстракт, сульфат железа (II), аскорбиновую кислоту и раствор $NaHCO_3$ по каплям до pH 7–7.5. При необходимости добавляют также 1% раствор хлористого водорода. Среду проверяют pH-метром.

Все операции проводятся в стерильных условиях в стороне от газа. Горловину колб, пробки, наконечники пипеток стерилизуют прокаливанием.

В конце эксперимента развитие СРБ можно определить по следующим признакам:

- образование темного осадка на дне посуды;
- образование сульфида водорода;
- по образованию живых форм СРБ.

Необходимые реагенты и посуда: стерильные стеклянные чашки объемом 20 см³; стерильные пипетки объемом 1, 2, 5 см³; стерильные колбы объемом 100 см³.

I этап. Обнаружение СРБ: после добавления в пробирки процентных растворов реагентов вместе с раствором Постгейта и 1 мл бактериальных клеток, пробирки помещают в термостат при температуре 30–35 °С и выдерживают там 14 дней. После изучения бактерицидной активности реагентов скорость восстановления СРБ рассчитывают по следующей формуле (ОСТ 39-234-89):

$$X \text{ мкг/л } H_2S = \frac{N(J) \times V(J) - N(Na_2S_2O_3) \times V(Na_2S_2O_3)}{V(H_2O)} \times 17000$$

Исходя из количества H_2S , определенного в результате расчета, рассчитывается бактерицидное действие реагента по следующей формуле

$$Z = \frac{C_1 - C_2}{C_1} \cdot 100 \%$$

C_1 – количество H_2S в безингибиторной среде, C_2 – количество H_2S в среде с ингибитором.

Результаты испытаний соединений (комплексов амидоаминов кислот соевого масла с алкилгалогенидами), синтезированных в мольном соотношении 1:3, в качестве бактерицидного средства против сульфатредуцирующих бактерий приведены в *табл. 2*.

Как видно из *табл. 2*, комплекс N-13 ($PSA + C_6H_{13}Br$) оказывает бактерицидное действие 94.5% при концентрации 5 мг/л, 99.3% при концентрации 25 мг/л и замедляет развитие бактерий, в то время как при концентрации 50 мг/л оказывает 100% бактерицидное действие и полностью подавляет рост бактерий.

$PSA + C_3H_{11}J$ обладает бактерицидным действием 93.5% при концентрации 5 мг/л, 97.3% при концентрации 25 мг/л и 99.2% при концентрации 50 мг/л, ослабляя развитие бактерий.

N-15 ($PSA + C_3H_{11}Br$) обладает бактерицидным действием 94% при концентрации 5 мг/л, 99% при концентрации 25 мг/л и ослабляет развитие бактерий, а при концентрации 50 мг/л оказывает 100% бактерицидное действие и полностью останавливает жизнедеятельность бактерий.

Таблица 2

Результаты испытаний алкилгалогенидных комплексов в качестве бактерицидов против СРБ

Название комплекса	Концентрация вещества, С, мг/л	Число бактерий (число клеток/мл)	Количество H_2S , мг/л	Бактерицидный эффект, Z-%
1	2	3	4	5
N-13 ($PSA + C_6H_{13}Br$)	5	10^1	20.4	94.5
	25	10^1	2.4	99.3
	50	-	-	-
N-14 ($PSA + C_3H_{11}J$)	5	10^1	24.3	93.5
	25	10^1	9.8	97.3
	50	10^1	2.9	99.2
N-15 ($PSA + C_3H_{11}Br$)	5	10^1	22.1	4
	25	10^1	4.5	99
	50	-	-	100
Контроль I			24 мг/л	
Контроль II			375 мг/л	
Контроль III			10^8	

II этап. Контроль II и по 1 мл каждой из проб брали отдельно, после промывки проводили посев в постгейтовую среду и выдерживали в термостате при 32 °С в течение 1 недели. В конце эксперимента определяли количество бактерий и результаты представили в *табл. 2*.

В среде без ингибиторов количество бактерий ($n_b \approx 10^8$) составляет сотни миллионов. Отсюда приходим к выводу, что в безреагентной среде количество бактерий составляет сто миллионов бактериальных клеток (10^8). Количество бактерий в пробах, отобранных при концентрациях 5, 25 и 50 мг/л в реагентных средах, изменилось следующим образом: Все пробы уменьшили количество бактерий с 10^8 до 10^1 при концентрациях 5 и 25 мг/л, а при концентрациях 50 мг/л – с 10^8 до 0, тем самым полностью останавливая развитие бактериальных клеток. Графическое представление результатов показано на *рис. 1*.

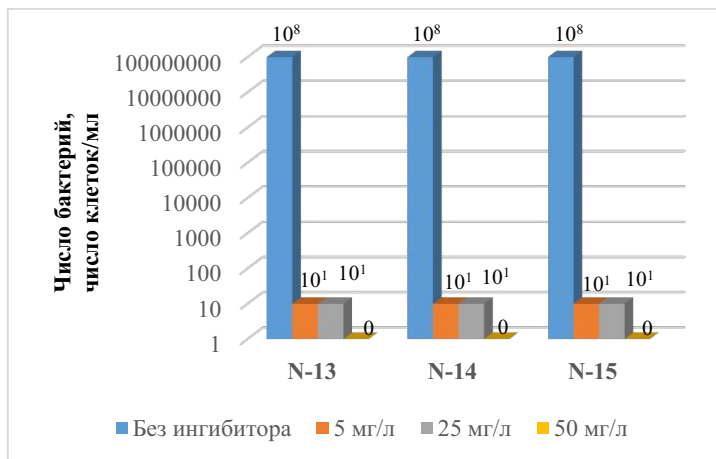


Рис. 5. Изменение количества бактериальных клеток в среде с ингибитором и в безингибиторной среде.

Выводы

Таким образом, в зависимости от строения алкилгалогенидные комплексы жирных кислот растительного происхождения проявляют высокие бактерицидные свойства и предлагаются в качестве бактерицидных ингибиторов в отношении сульфатредуцирующих бактерий, т.к. растворяют клеточную стенку сульфатредуцирующих бактерий и оказывают прямое бактерицидное действие на ядра, подавляя рост жизнедеятельности бактерий.

ЛИТЕРАТУРА

- Sharma P. K., Rao K. H., Analysis of different approaches for evaluation of surface energy of microbial cells by contact angle goniometry // *Advances in Colloid and Interface Science*, 2002. V. 98. No. 3. Pp. 341–463.
- Аббасов В. М., Мамедбейли Э. Г., Агамалиева Д. Б. и др. Синтез неорганических комплексов производных имидазолина на основе синтетических масляных кислот и кинетические эффекты коррозии сероводорода // *Транспорт и хранение нефтепродуктов и углеводородного сырья*, 2018. №2. С. 25–28.
- Ezizbeyli R., Talybov G. M., Agamaliyeva D. B., Mehtizada U. S. Chemo- and regio-selective alkoxyhalogenation of allylmetaacrylate with saturated c7-c10 – alkanol-1 and investigation on co2 corrosion of metals and biocorrosion влияния на биокоррозию // *Processes of petrochemistry and oil-refining*, 2021. V. 22. №1. Pp. 159–171.
- Ибрагимова М. Д., Мамедханова С. А., Агамалиева Д. Б., Абдуллазаде А. Б., Сеидова С. А., Мамедова Н. М. Влияние олигометиленарилсульфонатов на основе легкого газойля каталитического крекинга на процесс биокоррозии // *Практика противокоррозионной защиты*, 2020. №25(4). С. 18–25.
- Агамалиева Д. Б., Аббасов М. М., Аббасов В. М., Алиева Х.Х. Синтез алкиламиновых комплексов, полученных на основе малиновых кислот и исследование бактерицидных свойств // *Практика противокоррозионной защиты*, 2022. Т. 27. №1. С. 42–48. DOI: 10,31615/j, corros, prot, 2022, 103, 1–4.
- Аббасов В. М., Эфендиева Л. М., Агамалиева Д. Б., Рустамли Г. Ю., Юсифов Р. М., Агаев Ч. Э. Исследование аминоэфиров синтетической нефтяной кислоты, полученной аэробным окислением нафтен-парафиновых углеводородов в качестве ингибиторов коррозии // *Практика противокоррозионной защиты*, 2022, Т. 27. №3. С. 47–56. DOI: 10,31615/j, corros, prot, 2022, 105, 3-3.
- Ismayilova S. V., Mammadbeyli E. G., Kochetkov K. A., Hajiyeva G. E., Maharramova L. M. Synthesis of aminomethoxy derivatives of cyclohexanol and studying them as bactericide inhibitors // *Azerbaijan Chemical Journal*. 2022/1/25. №2. P. 11–17.
- Rahimov R. A., Ahmadova G. A., Isayeva A. M., Rustamova I. V., Agamaliyeva D. B., Zubkov F. I. Anionic cocogem surfactants containing propyl-2-ol groups: Synthesis, surface properties and antibacterial activity against SRB bacteria // *Egyptian Journal of Petroleum*, 2023. V. 32. №1. P. 15–21.
- Mammadova K. A., Rahimov R. A., Ahmadova G. A., Abilova A. Z., Aghamaliyeva D. B. Synthesis and properties of dissymmetric cocogem surfactants with different alkyl chain lengths // *PPOR*. 2023. Vol. 24. No. 1. Pp. 121–134.

10. Abbasov V. M., Agamaliyeva D. B., Gurbanova F. J., Talybov A. H., Efendiyeva L. M., Ayyubov I. H., Kahramanova K. A., Seidzade R. Kh. Study of pentyl bromide complex of amidoamine of sunflower acids as a corrosion inhibitor // German International Journal of Modern Science, 2023. №50. P. 5–6.
11. Postgate J. R., Campbell L. L. Classification of Desulfovibrio species the non sporulating sulfate- reducing bacteria. Bacteriol. Revs., 1966. Vol. 30. N 4. Pp. 732–738.
12. Аристовская Т. В., Владимирская М. Е., Голлербах М. М. Большой практикум по микробиологии. М.: Высшая школа, 1962. С. 491.

Поступила в редакцию 12.04.2023 г.

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2023.3.12

STUDY OF BACTERICIDAL PROPERTIES OF ALKYL HALIDE COMPLEXES OF SOYBEAN OIL ACID AMIDOAMINE DERIVATIVES**© V. M. Abbasov, D. V. Agamaliyeva, F. J. Gurbanova,
I. G. Ayyubov*, E. A. Abdulazimova***Institute of Petrochemical Processes
30 Khojaly Avenue, AZ 1025 Baku, Azerbaijan.***Email: ilgar.ayyubov@mail.ru*

The present article is devoted to the synthesis of alkyl halide complexes of amidoamine, obtained on the basis of soybean oil acids and polyethylenepolyamine, and the study of their bactericidal properties against sulfate-reducing bacteria. At the first stage, soybean oil acids were isolated by hydrolysis of a mixture of vegetable oil acids in 96% yield, their structure was confirmed by IR spectroscopy, and their physicochemical properties were determined. At the next stage, based on soybean oil acids and polyethylenepolyamine, amidoamine was synthesized in 95% yield, and its structure was confirmed by IR spectroscopy. Complexes of amidoamine and alkyl halides (hexyl bromide, pentyl iodide, pentyl bromide) were synthesized in high yield (95%, 95%, and 97%, respectively), the structure of the complexes was confirmed by IR spectroscopy, and their physicochemical parameters were determined. 20% solutions of the obtained alkyl halide complexes in isopropyl alcohol were prepared, and their bactericidal properties were studied at various concentrations of 5, 25, and 50 mg/l. The studies were carried out in a thermostat in Posqeyt B nutrient medium at the temperature of 32 °C for 15 days. On the basis of the research, it was found that a 20% solution of the pentyl iodide complex in isopropyl alcohol (N-14) at a concentration of 50 mg/l exhibits a 99.2% effect, and 20% solutions of hexyl and pentyl bromide complexes in isopropyl alcohol (N -13 and N-15) at a concentration of 50 mg/l exhibit a 100% bactericidal effect, completely suppressing the vital activity of sulfate-reducing bacteria.

Keywords: soybean oil acids, polyethylene polyamine, pentyl bromide, pentyl iodide, hexyl bromide, amidoamine, sulfate-reducing bacteria.

Received 12.04.2023.