

УДК.68.3:665.64(045)

DOI: 10.18372/0370-2197.1(98).17365

С. О. ПУЗІК, І. Л. ТРОФІМОВ

*Національний авіаційний університет, Київ***МІКРООРГАНІЗМИ – ДЖЕРЕЛО БІОЛОГІЧНОГО ЗАБРУДНЕННЯ ПАЛИВНО-МАСТИЛЬНИХ МАТЕРІАЛІВ У РЕЗЕРВУАРАХ ЇХ ЗБЕРІГАННЯ**

*З'ясовано, що наявність у резервуарах біологічних забруднень, таких як, продукти корозійних процесів, мікроорганізми різного походження, смолисті відкладення паливно-мастильних матеріалів (ПММ), може призвести до їх руйнації та зниження кондиційності ПММ, що негативно впливає на безпеку польотів повітряних суден, функціонування спецавтотранспорту. Із зразків проб з авіаційним ТС-1 та дизельним паливами виокремлено та ідентифіковано дріжджеподібні гриби і бактерії: субстратспецифічний тасовий гриб *Нормосоніс ресінае* (*Cladosporium resinae*) та бактеріальні культури як Грам-позитивних (Г+), Грам-негативних (Г-) так і Г-варіабільних «асоціацій». Виявлено, що ці мікроорганізми здатні до росту в присутності ПММ, формуючи з них потужні колонії з рухливими та нерухливими паличкоподібними бактеріями. На основі аналізу отриманих даних висловлено припущення, що у виявлених біологічних забрудненнях ПММ, мікроорганізми можуть спільно існувати тільки у складі біоплівки. Це припущення потребує подальшого дослідження, як і твердження про те, що здатність ПММ до адгезії є важливим етапом у процесі їх утилізації мікроорганізмами.*

Ключові слова: резервуар, мікроорганізми, паливно-мастильні матеріали, біологічне забруднення.

Вступ. Загальновідомо, ПММ є найбільш нестійкою до біологічних забруднень рідиною. Біологічне забруднення відбувається в результаті потрапляння до ПММ різних видів мікроорганізмів рослин і тварин (віруси, бактерії, гриби та дріжджі), яких раніше у нього не було. Мікроорганізми – це специфічна форма існування живої матерії. Вони характеризуються чисельністю, різноманітністю видів, негативним впливом на середовище.[1]

В процесі підготування технічних засобів об'єктів паливозабезпечення, а саме резервуарів паливозаправних комплексів аеропортів цивільного авіаційного транспорту і автозаправних станцій, необхідно, у відповідності до вимог нормативної документації, проведення періодичного зачищення їх внутрішньої поверхні від забруднень[2]. Наявність у резервуарах біологічних забруднень, таких як, продукти корозійних процесів, мікроорганізми різного походження, смолисті відкладення ПММ, може призвести до їх руйнації та зниження кондиційності ПММ, що негативно впливає на безпеку польотів повітряних суден, функціонування спецавтотранспорту

За статистичними даними, 33% всіх аварій і катастроф повітряних суден, відмов реактивних двигунів відбувається внаслідок забруднення ПММ, в тому числі, біологічними забрудненнями. Дослідження авторів привели до висновку, що стан чистоти внутрішньої поверхні резервуарів напряму залежить від кондиційності ПММ має рішучий вплив не тільки на їх економію, але і на надійність агрегатів паливної та інших систем, як наземного так і повітряного транспорту, безпеку їх руху [3].

Аналіз праць та постановка мети. Аналіз праць інших авторів щодо проблеми біозабруднення ПММ показав, що ще в 30-і роки минулого століття вчені Buchell і Naas зазначили, що мікроорганізми можуть використовувати ПММ, як джерело енергії для життєдіяльності [4] Вже 70-і роки радянські вчені дослідили негативний вплив мікроорганізмів на властивості палив [5] В Україні вивченням мікробіологічного забруднення ПММ і їх вплив на функціонування паливних систем повітряних суден займалася група вчених Національного авіаційного університету на чолі з професором О.Літвіновим. В 90-і роки вченим Р. Нейхотом був ідентифікований грибок *Normonic resinac*, як біозабруднення пального. В 21-му столітті вчені всього світу продовжують вивчення питання мікробіологічного забруднення ПММ, що свідчить про те, що проблема остаточно не вирішена і не зникла та є актуальною. Таким чином, **метою** даної роботи є виявлення та ідентифікація мікроорганізмів у зразках проб ПММ, взятих із резервуарів їх зберігання

Матеріали та методики. Для реалізації поставленої у роботі мети, застосовували сучасні мікробіологічні методи виділення, ідентифікації, культивування мікроорганізмів та визначення їх особливостей (культурально-морфологічних та фізіолого-біохімічних).

Частину досліджень, описану у цій роботі було проведено у рамках грантового проєкту «Експериментально-аналітичні засади гарантування безпеки людини та суспільства удосконаленням технологій поводження з відходами у техносфері» за підтримки Національного фонду досліджень України у 2021 році авторами праць [6–8].

Для виділення культур мікроорганізмів були використані зразки проб авіаційного палива ТС-1 із резервуару навчально-наукової лабораторії «Технологічні процеси у авіапаливозабезпеченні» (НН лабораторія ТПУА) ФЕБіТ НАУ та дизельного палива (ДП) із резервуару автозаправної станції (АЗС) транспортної інфраструктури м.Києва .

Для отримання накопичувальних культур мікроорганізмів зразки розміщували на поверхні таких агаризованих поживних середовищ: Malt extract agar, Malt agar (MEA, MA виробництва Merck KGaA, Німеччина), Nutrient Agar (NA, Sigma), триптиказо-соєвий агар (TCA), агар Чапека–Докса, картопляно-глюкозний агар (КА або PDA – Potato Dextrose Agar), агар Сабуро (HiMedia Laboratories) [7]. Виділення чистих культур мікроорганізмів із накопичувальних культур здійснювали із застосуванням стандартних мікробіологічних методів культивування на відповідних агаризованих живильних середовищах (MEA, PDA, Чапека-Докса).

Ізольовані чисті культури мікроскопічних грибів ідентифікували за допомогою критеріїв вітчизняних та зарубіжних авторів [8–12]. Таксономічний аналіз здійснювали за IX-м виданням «Словника грибів» Сучасні видові назви грибів уточнювали, використовуючи ресурси Інтернет, зокрема дані Індексу грибів [www.species fungorum].

Визначення фізіолого-біохімічних характеристик та ідентифікацію чистих культур мікроорганізмів (бактерій, дріжджів) проведено з використанням мікробіологічного аналізатору «Vitek-2» («Bio Merieux») (Франція) та відповідних ID-карток для грампозитивних, грамнегативних, спороутворювальних бактерій та дріжджів (GP-, GN-, BCL та YST-картки, відповідно). Для фарбування ізольованих бактерій за Грамом використовували набір барвників за Грамом

(Merck KGaA, Німеччина).

Для визначення особливостей розвитку ізолюваних чистих культур мікроорганізмів у авіаційному паливі ТС-1 для реактивних двигунів, суспензію тест-культур мікроскопічних грибів вносили в мінеральне середовище (у відповідності до ГОСТ 9.023-74) та додавали чисте авіаційне паливо ТС-1 у співвідношенні 1:1 (рис. 1)



Рис. 1. Схематичне зображення методичного підходу проведення досліджень

Пробірки струшували і культивували у термостаті за температури $28^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$. Візуальну оцінку росту проводили за ознаками: прозорість середовища, пігментація середовища, наявність плівки на межі мінеральне середовище-паливо, наявність осаду, розташування колоній грибів.

Отримані результати. У результаті проведених досліджень встановлено, що в накопичувальних культурах, отриманих шляхом розміщення зразків на агаризованих живильних середовищах, розвивалися міцеліальні, дріжджеподібні гриби та бактерії (рис. 2 та рис. 3).

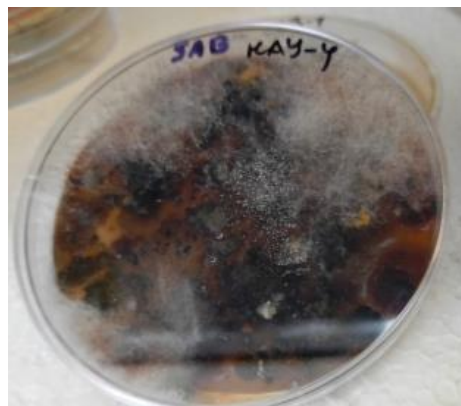


Рис. 2. Накопичувальні культури мікроскопічних міцеліальних грибів на живильних середовищах

Із зразків проб з авіаційним паливом ТС-1 (зразок №1) та дизельним паливом (зразок № 2) виокремлено субстратспецифічний гасовий гриб *Normoconis resinae* (*Cladosporium resinae*) (рис. 4).

Серед бактеріальних культур було констатовано наявність як Грам-позитивних (Г+), Грам-негативних (Г-) культури, так і Г-варіабільних

«асоціацій». Останні складались або виключно із бактеріальних культур (бактерії-бактерії), або із комплексів бактерій із дріжджеподібними мікроскопічними грибами (дріжджами).



Рис. 3. Розвиток мікроскопічних грибів відділу *Zygomycota* порядку *Mucorales* на досліджуваних зразках. ЗБ – зворотній бік чашок Петрі

При роботі із виявленими в зразках комплексами «бактерії-дріжджі», бактерії-бактерії», в більшості випадків не вдалося розділити мікроорганізми та отримати окремо чисті культури чи то бактерій, чи то дріжджів. При намаганні здійснити вищезазначений процес мікроорганізми втрачали свою життєздатність.

Серед грам-негативних культур бактерій переважали представники роду *Pseudomonas*, серед спороутворювальних – види роду *Bacillus*. Дріжджеподібні мікроскопічні гриби представлені видами *Rhodotorula* sp. (відділ Basidiomycota) та *Candida* spp. (відділ Ascomycota) (рис. 4-5).

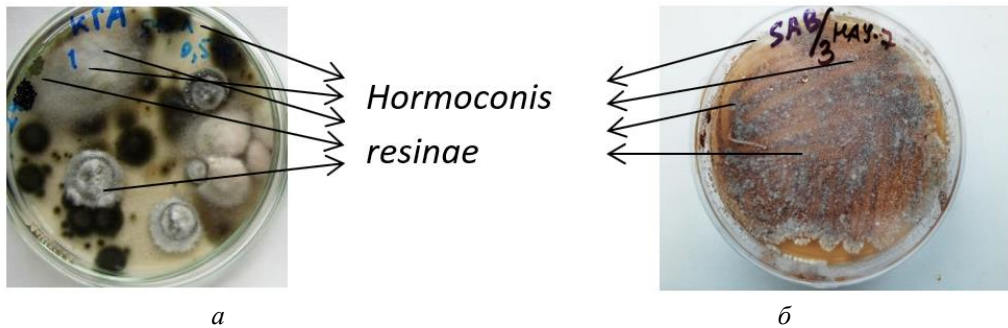


Рис. 4. *Hormoconis resinae* в накопичувальній культурі: а – в зразках з паливом ТС-1; б – у зразках з дизельним паливом

В результаті проведеного дослідження, виявлено мікроорганізми, що здатні до росту в присутності дизельного палива. Проте, стабільні колонії мікроорганізмів, які були здатні до нарощування біомаси впродовж п'яти пересівів, виявлені у пробі з дизельним паливом, відібраній із резервуару АЗС транспортної інфраструктури м. Київ.

За допомогою мікроскопічного дослідження виявлено, що колонії утворювалися нерухливими та рухливими паличкоподібними бактеріями. Нерухливі форми розташовувались в середині краплини дизельного палива, а рухливі зовні частини мембрани, або вільно переміщались у рідині (рис. 5).

Автори праць [6-8] припускають, що у пробі №1 – капсулоутворюючі і неспороутворюючі палички, здатні до окиснення авіаційного палива.

При культивуванні колоній бактерій зразка №2, на твердому середовищі Таусона, що містило 100 мкл дизельного палива через 24 год культивування при 28°C спостерігали формування потужної колонії мікроорганізмів (рис. 6, а – в).

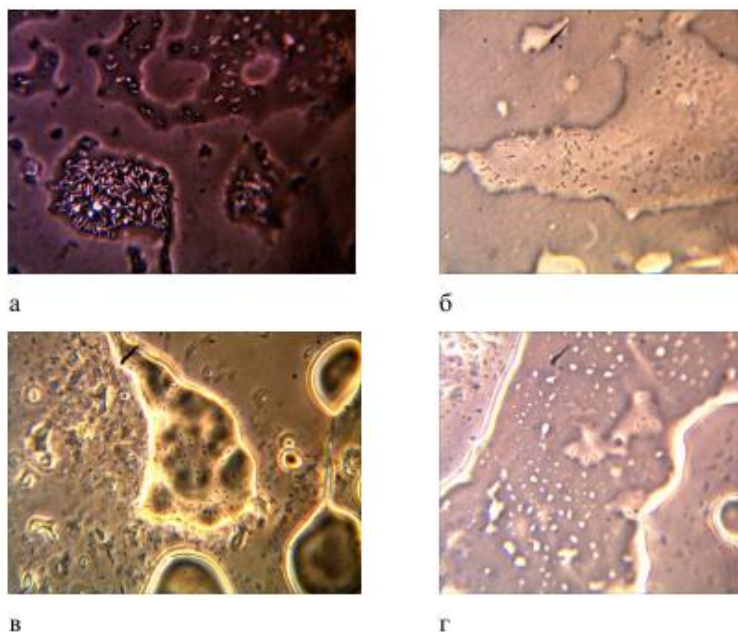


Рис. 5 Взаємодія клітин колоній мікроорганізмів, виявлених в зразках проб з краплями дизельного палива №2 (а-б), і авіаційного №1 (в-г) відповідно, після 10 діб культивування на середовищі Таусона. Фазово-контрастна мікроскопія, збільшення $\times 1600$

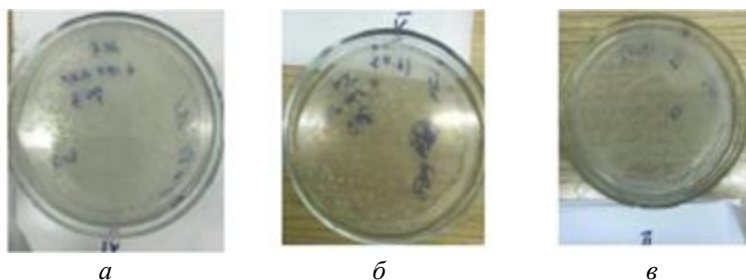


Рис. 6 Культивування бактерій консорціумів на агаризованому середовищі Таусона в присутності дизельного палива

Відомо, що більшість мікроорганізмів утворюють біоплівки – майже 99% всіх мікроорганізмів на Землі існують в такому стані (біоплівочні угруповання). У них співіснують мікроорганізми із різною ферментативною активністю, різними адаптивними властивостями тощо. Найімовірніше, що у виявлених біологічних забрудненнях ПММ, мікроорганізми також можуть спільно існувати тільки у складі біоплівок [13]. Подальше дослідження складу біоплівочних угруповань несе в собі велике практичне значення шляхом використанні таких біоплівок в біотехнології. Крім того відомо, що здатність ПММ до адгезії є важливим етапом у процесі їх утилізації мікроорганізмами, оскільки безпосередній контакт клітин мікроорганізмів та гідрофобного середовища ПММ сприяє їх біодеградації [14].

Разом з тим, необхідно зазначити, що проблеми пов'язані з біопшкодженнями і руйнацією матеріалів технічних засобів об'єктів паливозабезпечення, набувають важливого значення з огляду на питання надійності паливної та інших систем повітряного і наземного транспорту.

Висновки. Наявність у резервуарах забруднень, таких як, продукти корозійних процесів, мікроорганізми різного походження, смолисті відкладення ПММ, може призвести до їх руйнації та зниження кондиційності ПММ, що негативно впливає на безпеку польотів повітряних суден, функціонування спецавтотранспорту

Аналіз літературних джерел показав, що в 21-му столітті вчені всього світу продовжують вивчення питання мікробіологічного забруднення ПММ, що свідчить про те, що проблема остаточно не вирішена і не зникла та є актуальною.

Із зразків проб з авіаційним та дизельним паливами виокремлено та ідентифіковано дріжджеподібні гриби і бактерії: субстратспецифічний гасовий гриб *Normosporis resinae* (*Cladosporium resinae*) та бактеріальні культури як Грампозитивних (Г⁺), Грам-негативних (Г⁻) так і Г-варіабільних «асоціацій».

Виявлено, що мікроорганізми здатні до росту в присутності ПММ, формуючи з них потужні колонії з рухливими та нерухливими паличкоподібними бактеріями.

Найімовірніше, що у виявлених біологічних забрудненнях ПММ, мікроорганізми також можуть спільно існувати тільки у складі біоплівки. Це припущення потребує подальшого дослідження, як і твердження про те, що здатність ПММ до адгезії є важливим етапом у процесі їх утилізації мікроорганізмами.

Список літератури

1. http://childflora.org.ua/page_id=148[Архівовано 24 квітня 2019 посилання у Wayback Machine]
2. Пузік С.О., Баканов Є.О., Терьохін В.І., Опанасенко В.Ф. Технологічні процеси з ПММ, підручник.-К.: НАУ, 2003.-256с.
3. Пузік С.О. Розробка гравітаційного очисника авіаційних палив. Дис. канд. техн. наук.-К.: 1998-188с
4. L.D. Bushnell and H.F. Haas. The utilization of Certain Hydrocarbons by microorganisms j bacterial. 1941 May. 41(5): P. 653-673
5. Harold W. Craef. An analysis of microbial contamination in military aviation fuel systems./ Department of the Air Force Air University Air Force Institute of Technology // Air Force Base W. 2003. 221 p.
6. Трофімов І.Л. Виділення комплексу та чистих культур мікроорганізмів, здатних до деструкції/деградації вуглеводнів нафтопродуктів та твердих органічних відходів із проб звалищ транспортної інфраструктури м. Києва. / Трофімов І.Л., Бойченко С.В., Шкільнюк І.О., Шаманський С.Й., Яковлева А.В., Зелена П.П. // матеріали Національного форуму «Поводження з відходами в Україні: законодавство, економіка, технології». – Том 1. – 2021. – С. 88 – 94.
7. Boichenko S.V., Shkilniuk I.O. Cause-and-effect analysis of microbiological contamination of motor fuels and prospects for the rational use of biodegradation in the processes of recycling waste from the technosphere / Development of scientific, technological and innovation space in Ukraine and EU countries. – 3rd ed. – Riga, Latvia: “Baltija Publishing”, 2021. – P. 1 – 19. DOI: 10.30525/978-9934-26-151-0.
8. Трофімов І.Л. Експериментально-аналітичні засади гарантування безпеки людини та суспільства удосконаленням технологій поводження з відходами у техносфері / І.Л.

Трофімов, А.В. Яковлева, І.О. Шкільнюк, С.Й. Шаманський, Т. О. Кондратюк, С.В. Бойченко // Проблеми хімотології. Теорія і практика раціонального використання традиційних і альтернативних палив і олів: III Міжнар. наук. практ. конф., (21 – 25 липня 2021 р.). – Кам'янець-Подільський, 2021. – С. 76.

9. В гармонії з природою. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.rav.com.ua/ua/useful_know/clauses/world_trash/trash_world_u.

10. Попович В. В. Система роздільного збору сміття та її вплив на процеси деструкції на полігонах твердих побутових відходів / В. В. Попович // Науковий вісник НЛТУ України : зб. наук.-техн. праць. – Львів: PBB.

11. Samson R.A. Introduction to food and airborne fungi. 7th edit. / R.A. Samson, E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad // Wageningen, the Netherlands, printed by Ponsen and Looyen. – 2004. – 389 p.

12. Cohen Y. Bioremediation of oil by marine microbial mats. *International Microbiology*. 2002;5(4): P. 189-193. DOI: 10.1007/s10123-002-0089-5.

13. Zalar P. Phylogeny and ecology of the ubiquitous saprobe *Cladosporium sphaerospermum*, with descriptions of seven new species from hypersaline environments / P. Zalar, G.S. de Hoog, H.-J. Schroers, P.W. Crous, J.Z. Groenewald, N. Gunde-Cimerman // *Studies in Mycology*. – 2007. – 58. – P. 157–183.

14. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов. / Пер. с англ. К.Л. Тарасова, Ю.Н. Ковалева / Под ред. д-ра мед. наук И.Р. Дорожковой . – М.: Мир, 2001. – 468 p.

Стаття надійшла до редакції 02.02.2023.

Пузік Сергій Олексійович – канд. техн. наук, професор Національного авіаційного університету, пр.Любомира Гузара,1, м. Київ, Україна, 03058, E-mail: s.puzik@email.ua. Конт.тел.+380963864002, <https://orcid.org/0000-0001-6151-1240>.

Трофімов Ігор Леонідович – канд. техн. наук. доцент, доцент кафедри хімії і хімічної технології Національний авіаційний університет. пр. Любомира Гузара,1,м.Київ,Україна,03058,E-mail:troffi@uk.net. Конт. тел. +3800972382889, <https://orcid.org/0000-0001-5539-1166>.

S. O. PUZIK, I. L. TROFIMOV

MICROORGANISMS - A SOURCE OF BIOLOGICAL CONTAMINATION OF FUELS AND LUBRICANTS IN STORAGE TANKS

It has been found that the presence of biological contaminants in tanks, such as corrosion products, microorganisms of various origins, resinous deposits of fuels and lubricants (F&L), can lead to their destruction and a decrease in the condition of F&L, which negatively affects the safety of aircraft flights and the operation of special vehicles. Yeast-like fungi and bacteria were isolated and identified from samples of aircraft TS-1 and diesel fuel: the substrate-specific gassing fungus *Hormoconis resinae* (*Cladosporium resinae*) and bacterial cultures of both Gram-positive (G+), Gram-negative (G-) and G-variable "associations". It was found that these microorganisms are able to grow in the presence of F&L, forming powerful colonies of motile and non-motile rod-shaped bacteria. Based on the analysis of the data obtained, it is assumed that in the detected biological contamination of F&L, microorganisms can coexist only in the composition of biofilms. This assumption needs to be further investigated, as does the claim that the adhesion ability of F&L is an important step in the process of their utilization by microorganisms.

Keywords: tank, microorganism, fuel and lubricants, biological pollution.

References

1. http://childflora.org.ua/page_id=148[Archived April 24, 2019, from the Wayback Machine]
2. Puzik S.O., Bakanov E.O., Teriokhin V.I., Opanasenko V.F. Technological processes with fuels and lubricants, textbook. – K.:NAU,2003-256 p.
3. Puzik S.O. Development of a gravity purifier of aviation fuels. Thesis of Candidate of Technical Sciences.- K.:1998-188 p.
4. Bushnell L. D.; Haas H. F. The utilization of certain hydrocarbons by microorganisms. *Journal of bacteriology*, 1941, 41.5: P. 653-673.
5. Harold W. Craef. An analysis of microbial contamination in military aviation fuel systems./Dehartment of the air forse Air unisvesity Air forse institute of technology//Air Forse Base W. 2003.P. 221.
6. Trofimov I.L. Isolation of a complex and pure cultures of microorganisms capable of hydrocarbon destruction/degradation of oil products and solid organic waste from samples of landfills of transport infrastructure in Kyiv. / Trofimov I.L., Boichenko S.V., Shkilnyuk I.O., Shamansky S.Y., Yakovleva A.V., Zelena P.P. // Proceedings of the National Forum "Waste Management in Ukraine: Legislation, Economics, Technology." - Vol. 1. - 2021. - P. 88 - 94.
7. Boichenko S.V., Shkilniuk I.O. Cause-and-effect analysis of microbiological contamination of motor fuels and prospects for the rational use of biodegradation in the processes of recycling waste from the technosphere / Development of scientific, technological and innovation space in Ukraine and EU countries. – 3rd ed. – Riga, Latvia: “Baltija Publishing”, 2021. – P. 1 – 19. DOI: 10.30525/978-9934-26-151-0.
8. Experimental and analytical principles of ensuring the safety of man and society by improving waste management technologies in the technosphere / Trofimov I.L., Yakovleva A.V., Shkilnyuk I.O., Shamansky S.Y., Kondratyuk T.O., Boychenko S.V. // Problems of chemotology. Theory and practice of rational use of traditional and alternative fuels and oils: III International Scientific and Practical Conference (July 21-25, 2021) - Kamianets-Podilskyyi, 2021. - 76 p.
9. In harmony with nature. – [Electronic resource]. – Access mode: http://www.rav.com.ua/ua/useful_know/clauses/world_trash/trash_world_u.
10. Popovych V. V. The system of separate waste collection and its impact on the processes of destruction at landfills / V. V. Popovych // Scientific Bulletin of the National Forestry University of Ukraine: a collection of scientific and technical works - Lviv: RVV.

11. Samson R.A. Introduction to food and airborne fungi. 7th edit. / R.A. Samson, E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad // Wageningen, the Netherlands, printed by Ponsen and Looyen. – 2004. – 389 p.

12. Cohen Y. Bioremediation of oil by marine microbial mats. *International Microbiology*. 2002;5(4):P. 189-193. DOI: 10.1007/s10123-002-0089-5.

13. Zalar P. Phylogeny and ecology of the ubiquitous saprobe *Cladosporium sphaerospermum*, with descriptions of seven new species from hypersaline environments /P. Zalar, G.S. de Hoog, H.-J. Schroers, P.W. Crous, J.Z. Groenewald, N. Gunde-Cimerman // *Studies in Mycology*. – 2007. – 58. – P. 157–183.

14. Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. Identifier of pathogenic and conditionally pathogenic fungi. / Translated from English by K.L. Tarasov, Yu.N. Kovalev / Edited by I.R. Dorozhkov, M.D.. - Moscow : Mir, 2001. - 468 p.

Puzik Sergiy O. – Candidate of Technical Sciences, Professor of the National Aviation University, 1 Liubomyr Huzar Ave, Kyiv, Ukraine, 03058, E-mail: s.puzik@email.ua. Конт.тел.+380963864002, <https://orcid.org/0000-0001-6151-1240>.

Trofimov Igor Leonidovich – Candidate of Technical Sciences, Associate Professor of the Department of Chemistry and Chemical Technology, National Aviation University. avenue Lyubomira Гузара, 1, м.Київ, Україна, 03058, E-mail: troffi@ukr.net. Конт.тел.+3800972382889, <https://orcid.org/0000-0001-5539-1166>.