

Н.В. Ткачук, В.О. Янченко, А.М. Демченко

Чернігівський національний педагогічний університет імені Т.Г.Шевченка,
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів, 14013, Україна,
тел.: +38 (04622) 3 21 06, e-mail: smyukun_nata@list.ru

ЧУТЛИВІСТЬ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ ТА АМОНІФІКУВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ ДО ПОХІДНИХ 4-АМІНО-3,5-ДИМЕТИЛ-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛІУ

Досліджено чутливість мікроорганізмів корозійно небезпечних груп – сульфатвідновлювальних і амоніфікувальних бактерій до похідних 4-аміно-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолію. Продукти, що містять 2-оксо-2-(1,2,3,4-тетрагідро-6-нафталеніл)етильний радикал є перспективними інгібіторами корозійно небезпечних бактерій.

К л ю ч о в і с л о в а : антимікробні сполуки, сульфатвідновлювальні бактерії, амоніфікувальні бактерії, похідні 4-аміно-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолію.

Мікроорганізми виступають важливим чинником корозійних руйнувань металів [5]. Корозійно-небезпечні угруповання мікроорганізмів формуються навколо металевих споруд у феросфері. На поверхні, що руйнується, утворюється біоплівка [5, 12]. В лабораторних модельних експериментах показано, що на перших етапах розвитку біоплівки найактивнішими мікроорганізмами є амоніфікувальні бактерії (АМБ). Вони продукують значну кількість екзополімерів, що сприяє формуванню структури біоплівки і створенню анаеробних умов для подальшого розвитку бактерій інших груп [8]. Зокрема основними агентами корозійного руйнування металів за анаеробних умов є сульфатвідновлювальні бактерії (СВБ) [5].

Для попередження розвитку бактерій та захисту матеріалів від пошкодження використовують антибактеріальні сполуки [2]. Практичний інтерес мають четвертинні солі нітрогенвісних гетероциклічних сполук, зокрема похідні 1,2,4-триазолу, серед яких знайдено та впроваджено в практичну діяльність ряд сполук з антибактеріальними та протигрибковими властивостями [13]. Триазолам притаманні й високі протикорозійні властивості [9, 11, 14–17] і в умовах мікробної корозії [2, 9, 15, 16].

Тому метою роботи було дослідити чутливість сульфатвідновлювальних та амоніфікувальних бактерій до деяких похідних 4-аміно-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолію.

© Н.В. Ткачук, В.О. Янченко, А.М. Демченко, 2010



72 ————— Мікробіологія і біотехнологія № 4/2010

Матеріали і методи

Об'єктом дослідження були 4-добові накопичувальні культури корозійно-активних бактерій – СВБ та АМБ (після п'яти пасажів на сереводовищі Постейта В та м'ясо-пептонному бульйоні відповідно за умов періодичного культивування [6]), отримані нами з феросфери сталевих труби, що кородувала. Визначали чутливість культур мікроорганізмів до похідних 4-аміно-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолію (табл. 1), які синтезовано на кафедрі хімії Чернігівського національного педагогічного університету імені Т.Г. Шевченка під керівництвом д.ф.н., професора Демченка А.М. Солі 4-аміно-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолію (I–VII) отримували безпосередньо взаємодією 4-аміно-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолу з відповідними заміщеними фенацилбромідами при нагріванні в етанолі протягом 3-х годин [10]. Сіль VIII отримували за тих же умов із 4-аміно-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолу та α-хлорацетаніліду. Склад та будова сполук підтверджені сучасними методами фізико-хімічного аналізу.

Таблиця 1

Формули похідних 4-аміно-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолію

Table 1

The formulas of 4-amino-3,5-dimethyl-4Н-1,2,4-triazolium derivatives

Умовне позначення	Формула	Назва
I		3
II		4-аміно-3,5-диметил-1-(2-оксо-2-фенілетил)-4Н-1,2,4-триазол-1-ій бромід
III		4-аміно-1-[2-(2,4-дихлорфеніл)-2-оксоетил]-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазол-1-ій бромід
I	2	3



Мікробіологія і біотехнологія № 4/2010

73

Продовження таблиці 1
Table 1 (continued)

IV		4-аміно-1-[2-(2-хлорфеніл)-2-оксоетил]-3,5-диметил-4H-1,2,4-триазол-1-ій бромід
V		4-аміно-1-[2-(3,4-диметилфеніл)-2-оксоетил]-3,5-диметил-4H-1,2,4-триазол-1-ій бромід
VI		4-аміно-1-[2-(4-метилфеніл)-2-оксоетил]-3,5-диметил-4H-1,2,4-триазол-1-ій бромід
VII		4-аміно-3,5-диметил-1-[2-оксо-(1,2,3,4-тетрагідро-6-нафталеніл)етил]-4H-1,2,4-триазол-1-ій бромід
VIII		4-аміно-1-[2-(2-тієніл)-2-оксоетил]-3,5-диметил-4H-1,2,4-триазол-1-ій бромід
IX		4-аміно-3,5-диметил-1-фенілкарбамойлметил-4H-1,2,4-триазол-1-ій хлорид



Чутливість культур СВБ та АМБ до похідних визначали методом дифузії в агар з використанням стерильних дисків з фільтрувального паперу [3], з концентрацією відповідних речовин на диск 12 мкг, 60 мкг та 120 мкг. Титр бактерій 10^7 клітин в 1 мл електронного агаризованих середовищ: Постгейта В (для СВБ) та м'ясо-пелтоному агарі (для АМБ). Для вирощування СВБ використовували метод Л.Д. Штурм в модифікації В.І. Дуди [1]. За діаметром зони пригнічення росту мікроорганізмів визначали їх чутливість до речовин [3]. Діаметр зон пригнічення росту бактерій визначали з урахуванням середнього квадратичного відхилення [4]. Відносна похибка представлених даних не перевищує 10%.

Результати дослідження та їх обговорення

Результати дослідження чутливості мікроорганізмів корозійно-небезпечних груп до похідних 4-аміно-3,5-диметил-4H-1,2,4-триазолію наведено в таблиці 2.

Таблиця 2
Чутливість корозійно-небезпечних бактерій до похідних 4-аміно-3,5-диметил-4H-1,2,4-триазолію

Table 2
Corrosion-dangerous bacteria sensitivity to the derivatives of 4-amino-3,5-dimethyl-4H-1,2,4-triazolium

Умовне позначення сполуки	Діаметр зони пригнічення росту бактерій (в мм) за відповідної концентрації сполуки					
	СВБ			АМБ		
	12 мкг/диск	60 мкг/диск	120 мкг/диск	12 мкг/диск	60 мкг/диск	120 мкг/диск
I	—	9,0±0,1*	9,7±0,7*	—	—	—
II	—	10,3±2,0*	12,7±0,7*	—	—	—
III	—	10,7±0,7*	16,0±0,6*	—	—	—
IV	—	—	10,0±0,1*	—	—	—
V	—	9,7±0,8*	9,7±0,8*	—	—	—
VI	—	10,0±0,1	12,7±1,1	—	—	—
VII	—	14,0±1,1*	21,7±1,7*	—	—	14,0±0,6
VIII	—	9,0±0,1	10,5±1,1	—	—	—
IX	—	—	—	—	—	—

Примітка: «—» — ріст бактерій не пригнічений
* — в зоні пригнічення росту окремі колонії



Встановлено, що СВБ слабкочутливі до похідного, яке не містить замісників в 2-оксо-2-фенілетильному залишку (сполука I) (табл. 1). Діаметр зон пригнічення росту бактерій становив $9,0 \pm 0,1$ мм (при концентрації 60 мкг/диск) та $9,7 \pm 0,7$ мм (при концентрації 120 мкг/диск) (табл. 2).

Порівняння антибактеріальної активності споріднених хлорвісних сполук II, III та IV (містять атоми хлору в 2-оксо-2-фенілетильному залишку (табл. 1)) свідчить, що введення атомів хлору забезпечує невисоку антибактеріальну властивість щодо асоціативної культури СВБ. Так, бактерії виявились чутливими до похідних II та III в концентрації 60 та 120 мкг/диск, а до похідного IV в концентрації 120 мкг/диск (табл. 2). При цьому похідне із Cl-замісником в пара-положенні (сполука III) проявило більш високі антимікробні властивості. В зоні інгібування росту є окремі колонії, що свідчить про гетерорезистентність дослідженої культури СВБ щодо похідних II, III та IV.

Похідні V та VI є аналогами і містять метильні замісники в 2-оксо-2-фенілетильному залишку (табл. 1). Діаметр зон пригнічення росту СВБ при концентрації 60 та 120 мкг/диск для даних сполук однаковий — 9,7 мм та 10,0–12,7 мм відповідно. Але за дії сполуки V в зоні відсутності бактерій є окремі колонії (табл. 2). Отже, метильний замісник в пара-положенні 2-оксо-2-фенілетильного залишку (сполука VI) посилює антимікробні властивості похідних 4-аміно-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолію. Зокрема посилення токсичних властивостей сполук щодо СВБ при пара-положенні метилу в бензеновому кільці відмічено в роботі [7].

За дії похідного VII, яке містить 2-оксо-2-(1,2,3,4-тетрагідро-6-нафтеніл)-етильний залишок (табл. 1), зона пригнічення росту СВБ виявилась максимальною для досліджених похідних і при концентрації 120 мкг/диск становила $21,7 \pm 1,7$ мм (табл. 2). Але культура СВБ проявила гетерорезистентність. Сполука VII також токсична і щодо АМБ. Так, при концентрації 120 мкг/диск зона пригнічення бактерій становила $14,0 \pm 0,6$ мм. До всіх інших сполук АМБ виявились нечутливими.

Сульфатвідновлювальні бактерії виявились слабкочутливими до сполуки VIII, яка містить 2-тієніл-2-оксоетил (табл. 1). За концентрації 60 та 120 мкг/диск діаметр зон пригнічення росту бактерій становив $9,0 \pm 0,1$ мм та $10,5 \pm 1,1$ мм відповідно (табл. 2).

До сполуки IX, яка містить фенілкарбамоїлметильний фрагмент (табл. 1), сульфатвідновлювальні та амоніфікувальні бактерії виявились нечутливими (табл. 2).

Таким чином, подальший пошук антимікробних сполук щодо корозійно небезпечних бактерій (сульфатвідновлювальних та амоніфікувальних) перспективний серед продуктів, що містять 2-оксо-2-(1,2,3,4-тетрагідро-6-нафталеніл)етильний радикал у першому положенні гетеросистеми.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Бабьева И.П.* Биология почв: учебник [для студ. высш. уч. завед.] / И.П. Бабьева, Г.М. Зенова. — М.: Изд-во МГУ, 1989. — 336 с.
2. *Герасименко А.А.* Защита машин от биоповреждений / Герасименко А.А. — М.: Машиностроение, 1984. — 112 с.
3. *Егоров Н.С.* Основы учения об антибиотиках / Егоров Н.С. — М.: Высш. шк., 1969. — 479 с.
4. *Лаккин Г.Ф.* Биометрия / Лаккин Г.Ф. — М.: Высш. шк., 1973. — 343 с.
5. *Мікробна корозія підземних споруд* / [Андрейук К.І., Козлова І.П., Коптева Ж.П. та ін.] — К.: Наук. думка, 2005. — 260 с.
6. *Романенко В.И.* Экология микроорганизмов пресных водоёмов / Романенко В.И., Кузнецов С.И. — Л.: Наука, 1974. — 193 с.
7. *Приходько С.В.* Функціонування корозійно активного мікробного угруповання ґрунту за присутності похідних триазолоазепну: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд.біол.наук: спец.03.00.07 „Мікробіологія” / С.В. Приходько. — Київ, 2009. — 20 с.
8. *Пуріш Л.М.* Динаміка суцесійних змін у сульфідогенній мікробній асоціації за умов формування біоплівки на поверхні сталі / Пуріш Л.М., Асаулєнко Л.Г. // Мікробіол. журн. — 2007. — Т. 69, № 6. — С. 19–25.
9. *Царенко И.В.* Ингибирование коррозии пятичленными полиазотистыми гетероциклами. II. 1,2,4-триазолы / Царенко И.В., Макаревич А.В., Кофман Т.П. // Защита металлов. — 1997. — Т. 33, № 4. — С. 415–417.
10. *Яценко В.О.* Основы химии гетероциклических сполук: [навч. посіб.] / Яценко В.О., Смольський О.С., Демченко А.М. — Чернівці: Чернігівський національний педагогічний університет імені Т.Г. Шевченка, 2010. — 224 с.
11. A benzotriazole derivative as a pretreatment corrosion inhibitor for copper / Notoya T., Satake M., Yashiro H. et al. // 15th International Corrosion Congress, Frontiers in Corrosion Science and Technology, Granada (Spain). September 22 to 27, 2002. Abstracts. — P. 290.
12. *Lewandowski Z.* Structure and Function of Biofilms / Lewandowski Z. // Biofilms: Recent Advances in Their Study and Control / Ed. by L.V. Evans. — Harwood: Harwood Acad. Publ., 2000. — P. 1–17.
13. *Negwer M.* Organic chemical drugs and their synonyms. 7-th revised / Negwer M. — Berlin. Acad. Verlag, 1994. — P. 4284.
14. *Synthesis and evaluation of the inhibitor effect of a new class of triazole compounds* / El Hajaji S., Lgamri A., Aziane D. et al. // Progr. In Org. Coat. — 2000. — Vol. 38, № 3–4. — P. 207–212.
15. *Tsarenko I.V.* Microbicidal properties of polymer films modified by 5-membered polynitrogen heterocycles / Tsarenko I.V., Makarevich A.V., Orekhov D.A. // Bioprocess Eng. — 1998. — Vol. 19, № 6. — P. 469–473.

16. Пат. 2292687 Великобритания, МКИ А 01 № 25/00 А 61 L 2/18. Corrosion inhibition of oxidant-based anti-microbial compositions: Пат. 2292687 Великобритания, МКИ А 01 № 25/00 А 61 L 2/18/ Green Bruce Philip. — № 9417241.8; Заявл. 26.8.94; Оpubл. 06.03.96; НКИ А5Е. — 7 с.

17. Пат. 5968408 США, МПК С 07 D 249/18, С 09 К 3/00. Methods of inhibiting corrosion using isomers of chloromethylbenzotriazole: Пат. 5968408 США, МПК С 07 D 249/18, С 09 К 3/00/ Anderson Sydia B., Cheng Longchun, Cady Michael A. (США); BetzDearborn Inc. — № 09/103493; Заявл. 24.06.98; Оpubл. 19.10.99; НПК 282/180. — 9 с.

Н.В. Ткачук, В.А. Янченко, А.М. Демченко

Черниговский национальный педагогический университет имени Т.Г. Шевченко,
ул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернигов, 14013, Украина,
тел.: +38 (04622) 3 21 06, e-mail: smykun_nata@list.ru

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИХ И АММОНИФИЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ К ПРОИЗВОДНЫМ 4-АМИНО-3,5-ДИМЕТИЛ-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛИЯ

Реферат

Исследована чувствительность бактерий коррозионно опасных групп — сульфатовосстанавливающих и аммонифицирующих к производным 4-амино-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолия. Антимикробные соединения, которые содержат 2-оксо-2-(1,2,3,4-тетрагидро-6-нафталил)этильный радикал, являются перспективными для разработки ингибиторов коррозионно опасных бактерий.

К л ю ч е в ы е с л о в а : антимикробные соединения, сульфатредуцирующие бактерии, аммонифицирующие бактерии, производные 4-амино-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолия.

Н.В. Ткачук, В.О. Янченко, А.М. Демченко

Chernihiv National Pedagogical University named after T.G. Shevchenko,
53, G. Polubotka Str., Chernihiv, 14013, Ukraine,
tel.: +38 (04622) 3 21 06, e-mail: smykun_nata@list.ru

SULPHATE-REDUCING AND AMMONIFYING BACTERIA SENSITIVITY TO THE DERIVATIVES OF 4-AMINO-3,5-DIMETHYL-4H-1,2,4-TRIAZOLIUM

Summary

The sensitivity of corrosion-dangerous groups bacteria — sulphate-reducing bacteria and the ammonifying bacteria to the derivatives of 4-amino-3,5-dimethyl-4H-1,2,4-triazolium has been investigated. It is supposed that antimicrobial substances can be found in the series of products, containing 2-oxo-2-(1,2,3,4-tetrahydro-6-naphhtalenyl)ethyl radical.

К е у w o r d s : antimicrobial substances, sulphate-reducing bacteria, ammonifying bacteria, the derivatives of 4-amino-3,5-dimethyl-4H-1,2,4-triazolium.