

УДК 542.816:66.081

Трекові поліетилентерефталатні мембрани з антибактеріальними властивостями

П.В. Вакулюк¹, М.Я. Вортман², І.М. Фуртат¹, А.Ф. Бурбан¹, Н.С. Клименко², В.В. Шевченко²

¹Національний університет «Києво-Могилянська академія»
2, вул. Сковороди, Київ, 04070, Україна

²Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України
48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна

Показано, що трєкові поліетилентерефталатні мембрани, модифіковані сорбованими гуанідиновмісними олігомерами виявляють антибактеріальні властивості, які визначаються молекулярною масою модифікуючих речовин. Встановлено, що незалежно від кількості гуанідинових фрагментів в основному ланцюзі, зі збільшенням молекулярної маси бактерицидна активність модифікованих мембран зменшується.

Вступ

На сьогодні промисловістю випускається значна кількість гідрофобних або помірно гідрофобних мембран [1]. Суттєвою перевагою згаданих мембран є їхня хімічна і термічна стійкість, що зумовлюють тривалий термін експлуатації. Разом із тим гідрофобні мембрани виявляють підвищену схильність до забруднення речовинами природного (гумінові та фульво-кислоти, білки, пектини) і синтетичного походження (нафтопродукти, розчини і суспензії полі-мерів тощо), а також мікроорганізмами. Останні дуже часто використовують вищевказані забруднення як джерело харчування. Біологічне забруднення мембран – один із головних чинників зміни їх розділювальних характеристик, біодеструкції, а також вторинного забруднення води продуктами метаболізму бактерій. Великою мірою це зумовлено адсорбцією компонентів розчинів на поверхні та в порах мембрани. Одним із шляхів суттєвого зменшення рівня забруднення мембрани є їх модифікування йоногенними речовинами [2], у т.ч. бактерицидними, що містять групи четвертинного амонію [3–5]. Таке модифікування мембран сприяє підвищенню гідрофільності їх поверхні та пор, значно знижує рівень мікробіологічного забруднення, а також надає мембранам специфічних розділювальних характеристик за рахунок утворення на поверхні катіоноактивних груп [6, 7].

Відомим способом модифікування поверхні гідрофобних мембран є сорбція високомолекулярних поверхнево-активних речовин (ПАР) [8], до складу яких входять відповідні функціональні групи. У зв'язку з цим створення нових ефективних йоногенних ПАР для модифікування поверхні гідрофобних мембран є актуальним науковим завданням. Разом із тим адсорбція ПАР на поверхні мембрани залежить як від

хімічного складу та структури молекул ПАР, так і природи мембрани, що залежить від дисперсійних та електростатичних взаємодій. У результаті адсорбції нейоногенних і йоногенних ПАР на гідрофобних мембранах їх поверхня гідрофілізується та набуває специфічних властивостей, зумовлених природою ПАР і їх функціональних груп [9]. Високомолекулярні ПАР на поверхні гідрофобних мембран мають незначну десорбцію у процесі експлуатації мембран і значний вплив на фізико-хімічні й розділювальні властивості мембран [10].

Великий інтерес викликають йоногенні поверхнево-активні біанкерні сполуки олігомерного типу (БАС) для модифікування мембран [11–13]. Характерною особливістю хімічної будови згаданих сполук є наявність йонногенних груп на обох кінцях гнучкого гідрофобного ланцюга. Наслідком цього є особлива поведінка їх на межі поділу фаз, суттєвим моментом якої є розміщення гідрофобного гнучкого блока олігомеру вздовж межі поділу фаз завдяки його якірному закріпленню у суміжній фазі (звідки й походить їх назва – біанкерні) [11, 12]. Таке розташування приводить до значного підвищення величини граничної поверхневої активності згаданих сполук. Саме тому ці поверхнево-активні речовини обрано нами для гідрофілізації поверхні гідрофобних мембран [13], оскільки попередньо було встановлено високу бактерицидну активність гуанідиновмісних фрагментів у складі цих речовин [14, 15].

У зв'язку з вищевикладеним, метою даної роботи було модифікувати поверхню трєкових поліетилентерефталатних мембран гуанідиновмісними олігомерними біанкерними сполуками та дослідити бактерицидні властивості отриманих мембран. Трекові мембрани були обрані тому, що на відміну від мембран,

отриманих іншими методами, вони характеризуються сукупністю паралельних циліндричних пор однакового розміру [16].

Матеріали і методи

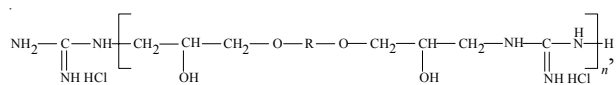
1. Реактиви і матеріали.

1.1. Мембрани.

У роботі було використано поліетилентерефталатні (ПЕТФ) трекові мембрани (Об'єднаний Інститут ядерних досліджень м. Дубна, Росія) з розміром пор 0,05 мкм.

1.2. Модифікуючі речовини.

Як модифікуючі речовини використовували поперечно-активні олігомерні біанкерні сполуки блочної будови з йоногенними гуанідиновими групами на кінцях і вздовж ланцюга з молекулярною масою від 500 до 2000, структурної формули:



де: R=4,4'-C₆H₄-C(CH₃)₂-C₆H₄, n= 1(I), 2(II), 3(III), 5(IV).

2. Обладнання.

Для дослідження водонепроникності і селективності сформованих мембран використовували стандартну циліндричну комірку непроточного типу Amicon 8200 (Millipore Corporation, США).

Гідрофільність поверхні модифікованих мембран оцінювали шляхом вимірюванням крайових кутів змочування методом сидячої краплі. Значення контактних кутів усереднювались вибіркою із 10; похибка вимірювання складала ±3°.

Вимірювання ξ-потенціалу мембран проводили відносно розчину KCl концентрацією 1·10⁻³ М на електродкінетичному аналізаторі (ЕКА, Anton Paar GmbH).

3. Методи досліджень.

3.1. Модифікування мембран.

Для модифікування зразки мембран площею 26,4·10⁻⁴ м² витримували у водних розчинах гуанідиновмісних олігомерів з початковими концентраціями 200, 500 і 1000 ppm (ppm – мг/л). Адсорбція тривала протягом 0,08 – 72 год. у модифікуючому розчині гуанідиновмісних олігомерів, об'ємом 20 см³. Упродовж процесу адсорбції через певні проміжки часу (зокрема, 1, 3, 6, 24, 48 і 72 год.) мембрани виймали з розчину олігомерів, промивали дистильованою водою і використовували для подальших досліджень. Модифікування проводили до повного адсорбційного насичення поверхні мембрани.

3.2. Методика визначення концентрації модифікуючих речовин.

Концентрацію водних розчинів олігомерних біанкерних сполук у вихідному розчині та розчині після адсорбції визначали за їх електропровідністю кондуктометричним методом з використанням кондуктометра HI 9032 (HANNA INSTRUMENTS, Португалія).

3.3. Визначення мінімальної пригнічувальної концентрації гуанідиновмісних сполук.

Мінімальну пригнічувальну концентрацію (МПК) гуанідиновмісних сполук щодо грамнегативних бактерій *Escherichia coli* штам НВ 101 визначали методом розведень у м'ясо-пептоновому агарі (МПА) (Serva, Німеччина) у модифікації реплік [17]. Суспензію добової культури *Escherichia coli* шт. НВ 101 готували у стерильному фізіологічному розчині NaCl. Стандартизовану за оптичним стандартом каламуті суспензію бактеріальних клітин (концентрацією 1·10⁹ клітин/мл) об'ємом 0,2 мл вносили у лунки реплікатора та висівали паралельно у три чашки Петрі на поверхню живильного середовища МПА з різною концентрацією досліджуваних сполук (ppm). Результати обраховували через 24 і 48 год. після культивування бактерій за температури 32 °С. Як контроль використовували МПА без додавання гуанідиновмісних сполук. Мінімумальною пригнічувальною концентрацією вважали ту найменшу концентрацію сполуки у середовищі, за якої мікроорганізми не росли.

3.4. Визначення бактерицидної активності мембран.

Бактерицидну активність модифікованих мембран визначали шляхом фільтрування суспензії добової тест-культури *Escherichia coli* шт. НВ 101 через досліджувану мембрану. Культуру *Escherichia coli*, що виросла на МПА (Serva, Німеччина), вносили у стерильний фізіологічний розчин NaCl до кінцевої концентрації 1·10⁵ – 1·10⁶ клітин/л. Після цього 10 мл суспензії профільтровували крізь досліджувану мембрану до сухого залишку. Фільтрування проводили у стандартній циліндричній комірці непроточного типу Amicon 8200 (Millipore Corporation, США) за ΔP = 0,05 МПа і T = 298 К. Контролем слугували немодифіковані мембрани. Після фільтрування дослідні і контрольні мембрани інкубували на діагностично-диференційному середовищі для виявлення кишкової палички Ендо (Fluka, США) за температури 301 К протягом доби. Бактерицидну активність модифікованих мембран визначали за кількістю колонієутворювальних одиниць (КУО), що виросли на поверхні мембран, і виражали у відсотках щодо кількості КУО, які виросли на поверхні немодифікованих мембран (контроль).

Результати і обговорення

У останні десятиліття широкого розповсюдження набули дезінфікуючі антимікробні засоби, що належать до групи ПАР. Серед них у якості найбільш ефективних самостійних антисептиків і дезінфектантів використовують тільки катіонні та амфолітні речовини. До катіонних ПАР (КПАР) належать сполуки, що містять у своєму складі групу четвертинного амонію та похідні гуанідинів. Згадані речовини, завдяки своїй дифільній молекулярній структурі, здатні концентруватися на міжфазних поверхнях, змінюючи їх властивості. Бактерицидна дія КПАР ґрунтується на тому,

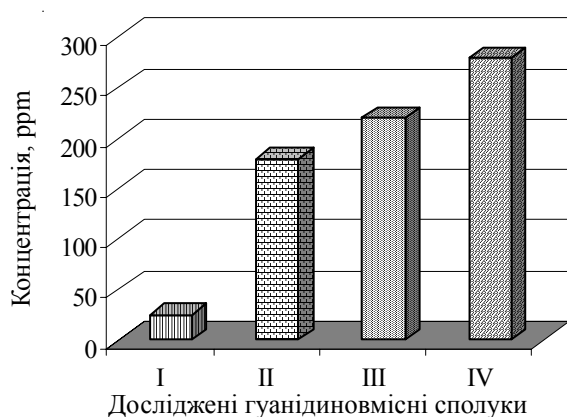


Рис. 1 Мінімальні пригнічувальні концентрації гуанідиновмісних олігомерів щодо *Escherichia coli* шт. NB 101

що в результаті адсорбції позитивно зарядженого йона поверхня бактеріальних клітин втрачає негативний заряд і набуває позитивного. Внаслідок такої перезарядки бактеріальної поверхні відбувається руйнування клітинних мембран, екстрагування вмісту клітини і як результат – денатурація білків та інактивація ферментів [18–20]. Крім антимікробних властивостей, КПАР притаманна здатність до очищення твердих поверхонь і їх дезодорації. Вони також не агресивні, не летючі, без смаку й запаху, стійкі під час зберігання, мають нейтральні значення рН і добре поєднуються з багатьма хімічними речовинами. Такі властивості сприяють широкому використанню катіонних ПАР для розробки дезінфікуючих засобів нового покоління або створення фільтрів для знезараження води. Завдяки здатності до утворення комплексів з важкими металами, згадані речовини також можуть бути використані як флокулянти, які не лише знезаражують воду, але й видаляють з неї шкідливі домішки [18, 21].

Бактерицидну активність досліджуваних гуанідиновмісних сполук вивчали з використанням у якості модельних мікроорганізмів грамнегативних бактерій *Escherichia coli*, оскільки наявність бактерій групи кишкової палички є показником фекального забруднення та використовується для оцінки санітарно-мікробіологічного стану якості води. У результаті порівняльного аналізу бактерицидних властивостей отриманих нами гуанідиновмісних сполук щодо

Escherichia coli шт. NB 101 було встановлено, що всі вони пригнічували ріст тест-культури, однак їхня бактерицидна активність була різною (рис. 1). Найвищий бактерицидний ефект виявляла сполука I, для якої мінімальна пригнічувальна концентрація становила 25 ppm. Натомість сполуці IV, що характеризується найвищою молекулярною масою (ММ), була притаманна найнижча бактерицидна активність (МПК= 280 ppm). Таким чином, отримані результати засвідчують, що вже за концентрації 300 ppm у живильному середовищі будь-якої із досліджених нами гуанідиновмісних сполук не було росту культури *Escherichia coli* шт. NB 101.

Подальші дослідження були спрямовані на вивчення бактерицидної активності ПЕТФ мембран, модифікованих гуанідиновмісними сполуками шляхом їх адсорбції з розчинів. Адсорбцію гуанідиновмісних олігомерів проводили з їх водних розчинів з концентрацією 300 ppm протягом 24 год. Бактерицидну активність ПЕТФ мембран, модифікованих гуанідиновмісними сполуками, визначали щодо тест-культури *Escherichia coli* шт. NB 101. У результаті проведених досліджень було з'ясовано, що адсорбція гуанідиновмісних олігомерів на поверхні мембрани одночасно з набуттям антибактеріальної активності призводила до зменшення її проникності (табл. 1). Показано також, що як і у випадку гуанідиновмісних сполук, найвищою бактерицидністю характеризувалися мембрани, модифіковані сполукою I. Крім того, при застосуванні сполуки I спостерігали найнижчий рівень втрати продуктивності мембран. Очевидно, це може бути пов'язано з відносно низькою молекулярною масою згаданої сполуки.

Дослідження антибактеріальної активності модифікованих трекових мембран засвідчує, що вона залежить від концентрації модифікуючого розчину – з підвищенням концентрації гуанідиновмісних олігомерів бактерицидність мембран також зростає (табл. 2). Як і у попередніх випадках найвищу бактерицидність (незалежно від концентрації вихідного розчину гуанідиновмісних олігомерів) виявляли мембрани, модифіковані розчином сполуки I. Для досягнення порівнюваного рівня бактерицидної активності мембран, модифікованих іншими сполуками, необхідно було значно підвищувати концентрації їх модифікуючих розчинів. Слід зазначити, що бактерицидний

Таблиця 1. Бактерицидність трекових ПЕТФ мембран, модифікованих гуанідиновмісними олігомерами, щодо *Escherichia coli* шт. NB 101

Трекові ПЕТФ мембрани, модифіковані гуанідиновмісними сполуками:	J_v , л/(м ² ·год.)	Бактерицидність, %
I	18,9	100
II	13,4	63
III	10,8	45
IV	6,9	32
Немодифікована мембрана (контроль)	33,7	0

Таблиця 2. Залежність бактерицидності модифікованих мембран від концентрації модифікуючого розчину гуанідиновмісних олігомерів (тривалість сорбції 24 год.)

Концентрація гуанідиновмісного олігомеру, ppm	Бактерицидність модифікованої мембрани, %			
	I	II	III	IV
300	100	63	45	32
500	100	82	65	49
1000	100	100	100	100

вплив мембран зменшувався з підвищенням ММ олігомеру і, відповідно, зниженням величини позитивного заряду на поверхні мембрани.

Під час вивчення впливу адсорбції досліджуваних нами сполук на характеристики мембран було встановлено, що адсорбція на поверхні трекових мембран гуанідиновмісних олігомерів супроводжується падінням їхньої водопроникності за рахунок зменшення розміру пор (рис. 2). Максимальна адсорбція, незалежно від ММ олігомеру, досягається за 48 год. (за концентрації модифікуючого розчину 300 ppm). Характер кривих засвідчує, що найбільш високу сорбційну здатність мають олігомери з більш високим значенням ММ. З іншого боку, сорбційна здатність даних сполук має протилежну спрямованість щодо відповідної зміни їхньої антибактеріальної дії.

Наслідком модифікування поверхні мембран також є зміна гідрофільності, яку оцінювали шляхом вимірювання крайових кутів змочування мембран водою (табл. 3). Отримані результати свідчать про суттєву гідрофілізацію поверхні модифікованих мембран щодо початкової мембрани, кут змочування якої становить 65°. При цьому спостерігається тенденція до зменшення величини крайового кута змочування за умови збільшення ММ олігомеру. Вимірювання ξ -потенціалу поверхні мембран дозволило встановити, що в результаті її модифікування відбувається зміна електроповерхневих властивостей вихідних мембран, що мають слабкий негативний поверхневий заряд ($-4,6 \pm 0,2$ мВ). Величина позитивного заряду, якого набувають мембрани, зменшується зі зростанням молекулярних мас поверхнево-активних олігомерів (табл. 3).

Зміна згаданих характеристик мембран приводить

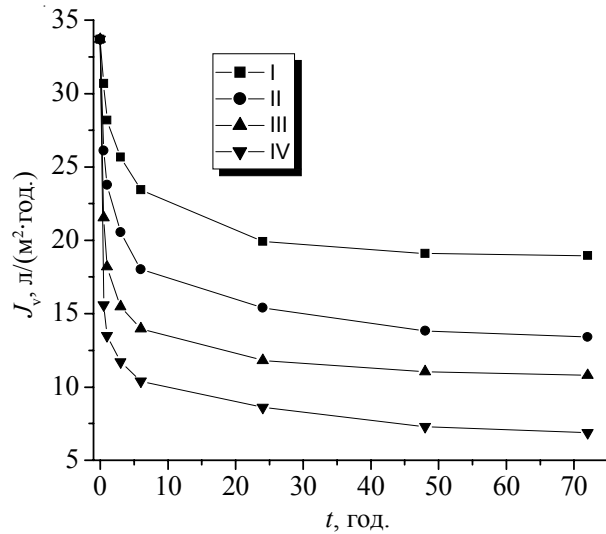


Рис. 2. Залежність величини об'ємного потоку води крізь трекову ПЕТФ мембрану від тривалості сорбції гуанідиновмісних сполук з водних розчинів

до відповідної зміни їхніх бактерицидних властивостей. Подовження тривалості адсорбції гуанідиновмісних сполук на поверхні мембран супроводжується збільшенням кількості адсорбованих гуанідиновмісних олігомерів і значним підвищенням бактерицидності модифікованих мембран (табл. 3).

Водночас, досить несподіваним є той факт, що найвища бактерицидна активність була притаманна сполуці I, яка має найменший показник сорбційної ємності, проте більш високі значення позитивного поверхневого заряду. Слід відмітити, що дана сполука характеризується наявністю лише кінцевих гуанідинових фрагментів, у той час, як зі збільшенням ММ їх кількість в основному ланцюзі збільшується при збереженні даних фрагментів на кінцях ланцюга. Очевидно, що бактерицидна активність даних сполук пов'язана саме з дією згаданих фрагментів. Разом із тим, відносна сумарна кількість гуанідинових фрагментів приблизно однакова (вміст кінцевих гуанідинових фрагментів у сполуках відповідно становить: I – 33,0; II – 27,0; III – 24,8 і IV – 22,8 %), однак саме ця відносна кількість кінцевих гуанідинових фрагментів визначає як величину поверхневого заряду, так і ефективність її бактерицидної дії. Очевидно, це

Таблиця 3. Вплив тривалості сорбції гуанідиновмісних сполук на властивості модифікованих мембран

Модифікуючі сполуки (концентрація 300 ppm)	Характеристики мембран після обробки впродовж певного проміжку часу, год.							Адсорбційна ємність, (г/м²)	Кут змочування, °	ξ -потенціал, мВ
	Бактерицидність модифікованих мембран, %									
	1	3	6	24	48	72				
0 (контроль)	0	0	0	0	0	0	0	65	$? 4,6 \pm 0,2$	
I	88	96	100	100	100	100	3,49	47	$+12,1 \pm 0,3$	
II	17	30	45	62	63	63	4,23	45	$+9,5 \pm 0,7$	
III	12	18	28	44	44	45	5,12	44	$+5,7 \pm 0,2$	
IV	7	11	23	30	32	32	7,25	42	$+3,1 \pm 0,4$	

Таблиця 4. Продуктивність та бактерицидні властивості модифікованих мембран залежно від терміну експлуатації

Термін експлуатації мембран τ , днів	Сполука I	
	Продуктивність мембран J_v , л/(м ² ·год.)	Бактерицидність мембран, %
0	18,96	100
1	18,55	100
2	18,32	100
3	18,25	100
5	18,22	100
7	18,18	100
10	18,15	100

пов'язано з особливостями адсорбції згаданих сполук на поверхні мембрани. Таким чином, відповідно до зміни молекулярної маси гуанідиновмісних сполук, спостерігається, як показано вище, й очікуване зниження продуктивності мембрани.

Як свідчать наведені дані (табл. 4), бактерицидна дія мембрани, модифікованої сполукою I, залишалася стабільною, а продуктивність практично не змінилася за 10 днів її роботи.

Висновки

Таким чином, у результаті проведених досліджень з'ясовано, що трекові ПЕТФ мембрани, модифіковані шляхом сорбції гуанідиновмісних олігомерів, харак-

теризуються антибактеріальними властивостями, активність яких залежить від молекулярної маси модифікуючих речовин. Незалежно від кількості гуанідинових фрагментів в основному ланцюзі зі збільшенням молекулярної маси бактерицидна активність модифікованих мембран знижується. Отримані результати засвідчують, що синтезовані гуанідиновмісні олігомери та застосований нами метод модифікації можуть бути використані для надання антибактеріальних властивостей широкому спектру гідрофобних мембран з метою їх ефективного застосування та подовження терміну експлуатації.

Література

1. Jonsson A. S., Jonsson B. // *J. Membr. Sci.* – 1991. – Vol. 56. – P. 49–76.
2. Lindau J. // *J. Membr. Sci.* – 1999. – Vol. 160. – P. 65–76.
3. Tatsuo T. // *Macromol. Mater. Eng.* – 2001. – **286**, № 2. – P. 63–87.
4. Tiller J.C., Lee S.B., Lewis K. // *Biotechnol. Bioeng.* – 2002. – **79**, № 7. – P. 465–471.
5. Tiller J.C., Liao C.J., Lewis K. // *Appl. Biolog. Sci.* – 2001. – **98**, № 11. – P. 5981–5985.
6. Appendini P., Hotckiss J.H. // *Appl. Polymer Sci.* – 2001. – **81**, № 5. – P. 609–616.
7. Baker J.S., Dudley L.Y. // *Desalination.* – 1998. – Vol. 118. – P. 81–90.
8. Yoon J., Yoon Y., Amy G. // *Water Research.* – 2003. – **37**, № 2. – P. 2001–2012.
9. Kavitskaya A.A., Klimenko N.A., Bildyukevich A.V., Petrachkov A.A. // *Desalination.* – 2003. – **158**, № 2. – P. 225–230.
10. Вакулук П.В., Бурбан А.Ф., Брик М.Т. та ін. // *Доп. НАН України.* – 2002. – № 10. – С. 133–138.
11. Липатов Ю.С., Шевченко В.В., Шрубович В.А. и др. // *Докл. АН УССР.* – 1989. – **306**, № 2. – С. 360–364.
12. Липатов Ю.С., Шевченко В.В., Файнерман А.Е. и др. // *Укр. хим. журн.* – 1990. – **56**, № 9. – С. 979–984.
13. Патент України №69337, МПК⁷ B01D71/82 „Спосіб отримання полімерних мембран”. – Опубл. – Бюл. № 8. – 2004 р.
14. Патент України № 69868, МПК⁷ C07C279/02 „Гуанідинвмісні олігомери як бактерицидні речовини”. – Опубл. – Бюл. № 9. – 2004 р.
15. Патент України №69869, МПК 7 C07C279/02 „Гуанідинвмісний аддукт як бактерицидна речовина”. – Опубл. – Бюл. № 5. – 2007 р.
16. Yamazaki I. M. // *J. Membr. Sci.* – 1996. – Vol. 118. – P. 239–245.
17. Василевская И.А., Сергейчук М.Г., Згонник В.В. и др. // *Мікробіол. журн.* – 1996. – **58**, № 5. – С. 66–76.
18. Merianos J. J. Quaternary ammonium antimicrobial compounds. In: Block S. S., editor. *Distribution, sterilization and preservation.* – Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. – P. 225–255.
19. Стенура Л.Г., Радченко О.С., Фуртат І.М., Михальський Л.О. // *Агроєкологічний журн.* – 2002. – № 4. – С. 60–63.
20. Фуртат І.М., Нів'євська Т.В., Горбатько Л.О., Михальський Л.О. // *Магістеріум. Природничі науки (Національний університет “Києво-Могилянська академія”).* – К.: Видавничий дім “КМ Academia”, 2004. – Вип. 16. – С. 29–35.
21. Бурчак Н.В. Синтез четвертичних солей аммония, пиперидиния и морфолиния и исследование их бактерицидной способности. – Тверь: ТГУ, 2000. – 45 с.

Надійшла до редакції 12 жовтня 2007р.

Трековые полиэтилентерефталатные мембраны с антибактериальными свойствами

П.В. Вакулюк¹, М.Я. Вортман², І.М. Фуртат¹, А.Ф. Бурбан¹, Н.С. Клименко², В.В. Шевченко²

¹Национальный университет «Киево-могилянская академия»

2, ул. Сковороды, Киев, 04070, Украина

²Институт химии высокомолекулярных соединений НАН Украины

48, Харьковское шоссе, Киев, 02160, Украина

Показано, что трековые полиэтилентерефталатные мембраны, модифицированные сорбированными гуанидинсодержащими олигомерами проявляют достаточно сильные антибактериальные свойства, которые зависят от молекулярной массы модифицирующих веществ. Независимо от количества гуанидиновых фрагментов в основной цепи с увеличением молекулярной массы бактерицидная активность модифицированных мембран уменьшается.

Track poly(ethylene terephthalate) membranes with antibacterial properties

P.V. Vakuliuk¹, M.Ya. Vortman², I.M. Furtat¹, A.F. Burbat¹, N.S. Klymenko², V.V. Shevchenko²

¹«Kyiv-Mohyla Academy», National University

2, St. Skovorody, Kyiv, 04070, Ukraine

²Institute of Macromolecular Chemistry of National Academy of Science of Ukraine

48, Kharkivske shause, Kyiv, 02160, Ukraine

It is showed, that track poly(ethylene terephthalate) membranes, which are modified with sorption of guanidine oligomers show rather strong antibacterial properties, which depend on molecular weight of modifying compounds. Bactericidal activity of modified membranes decreases with the increase of molecular weight and is irrespective to the quantity of guanidine fragments.