

О. О. Чикета, Г. А. Побігай, В. В. Коновалова, А. Ф. Бурбан

Імобілізація бактерицидних речовин на поверхні целюлозних мембран, модифікованих полігліцидилметакрилатом

(Представлено членом-кореспондентом НАН України М. Т. Картеєм)

*The method of modification of ultrafiltration cellulose membranes by glycidylmethacrylate (GMA) with the next immobilization of nalidixic acid and levofloxacin on them has been developed. Transport and antimicrobial properties of modified membranes have been studied. A decrease of the permeability caused by the grafting of GMA is shown. Antibacterial properties of membrane samples modified by antibiotics are studied against gram-negative bacteria *E. coli* and gram-positive bacteria *S. aureus*. Higher antibacterial activity of membranes modified by levofloxacin in comparison with those modified by nalidixic acid is shown. Thus, the antibacterial activity of membranes modified by 0.5% solutions of antibiotics was 90% for samples with nalidixic acid and 100% for samples with levofloxacin. All samples showed a lower antibacterial activity against that of gram-negative bacteria. The antibacterial activity remains stable for 36 days.*

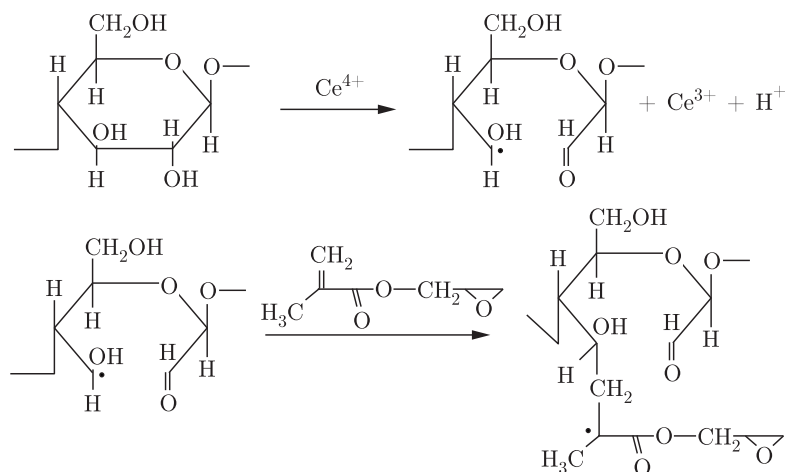
На сьогодні процеси водопідготовки та водоочищення перебувають у стані постійних наукових розробок та вдосконалень. Одним з найновіших та особливо перспективних напрямів сучасних досліджень є галузь мембранних технологій [1]. Серед найбільш актуальних проблем цієї галузі є процес забруднення мембран органічними речовинами та мікроорганізмами, які, зазвичай, знаходяться у воді, що надходить на очищення [1, 2]. Потрапляючи на мембрани та накопичуючись на їх поверхні, ці речовини утворюють гелеві шари, які значно знижують продуктивність мембранних установок. Промивання та заміна біо-забруднених мембран є процесами клопіткими та дорогими, тому запобігання утворенню біологічних осадів на робочій поверхні — одна з найважливіших, хоча і найменш досліджених проблем мембранних технологій [3]. У даному повідомленні запропоновано новий підхід до її розв'язання, а саме модифікування промислових мембран бактерицидними речовинами [4].

Нами досліджено отримання целюлозних мембран, стійких до біологічного забруднення, шляхом прищеплення до їх поверхні гліцидилметакрилату (ГМА) з подальшим їх використанням для імобілізації бактерицидних речовин. Вибір ГМА для модифікування мембран пов'язаний з його біфункціональністю завдяки присутності в молекулі подвійного зв'язку та епоксидної групи. Так, подвійний зв'язок забезпечує можливість полімеризації ГМА, а епоксидна група здатна до хімічних перетворень, взаємодіючи з різноманітними сполуками, серед яких є карбонові кислоти, аміни, феноли, кетони, галогенпохідні та ін [5].

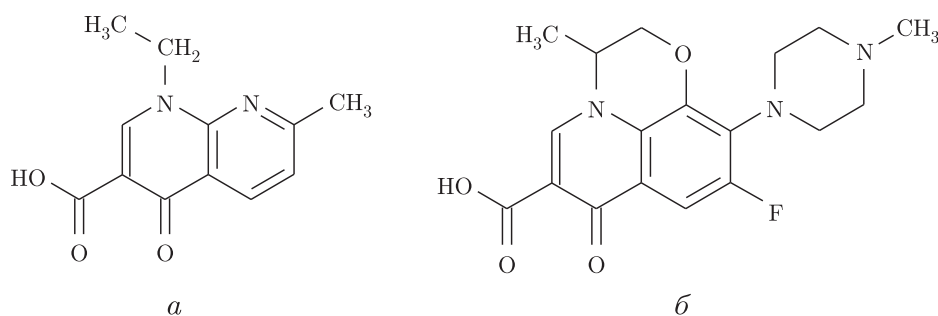
Прищеплення ГМА (Sigma) до ультрафільтраційних целюлозних мембран типу С010F (Nadir) проводили за допомогою радикально-ініційованої прищепленої полімеризації з використанням як ініціатора іонів Ce^{4+} . Мембрани модифікували у водному середовищі при температурах 298 та 323 К. Тривалість реакції змінювали від 0,5 до 3 год. Зразки мембран опускали в розчини церієамонійнітрату по 15 см^3 концентрацією від 2 до 20 ммоль/л

у 0,06 М HNO_3 і витримували при 298 К протягом 15 хв. Далі в реакційні суміші вводили по 15 cm^3 2%-го розчину ГМА і витримували при відповідній температурі протягом певного часу. Реакцію припиняли промиванням мембран у дистильованій воді протягом доби.

Реакція радикально-ініційованої прищепленої кополімеризації проходить за такою схемою:

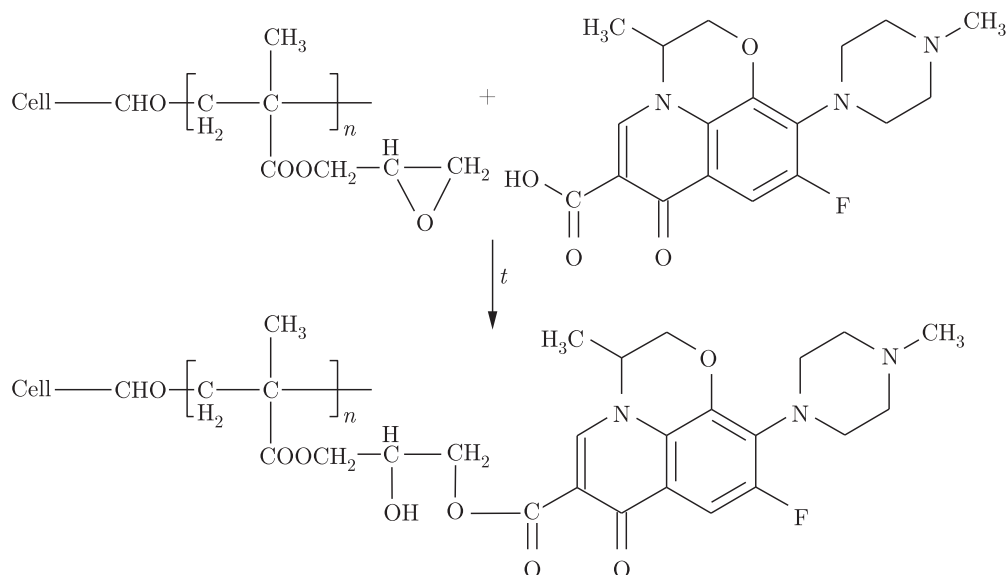


Як бактерицидні речовини використовували налідиксову кислоту (НК) (а) та левофлоксацин (ЛФ) (б) виробництва Fluka:



Дані препарати належать відповідно до першого та третього поколінь фармакологічної групи хінолонів/фторхінолонів. Ці синтетичні антибіотики характеризуються відносно низькою токсичністю та разом з тим широким спектром антимікробної дії, який включає грам(-) та грам(+) аеробні бактерії (окремі препарати активні також щодо анаеробів), мікобактерії, хламідії, мікоплазми. Згідно з сучасними уявленнями [6], механізм дії препаратів хінолінового ряду пов'язаний з інгібуванням ферменту ДНК-гідази бактеріальної клітини, який відповідає за розривання та відновлення суперскрученої спіралі ДНК.

Імобілізацію НК та ЛФ на целюлозні мембрани площею $26,4 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$ з прищепленим полігліцидилметакрилатом (ПГМА) проводили з їх водних розчинів протягом 24 год при 303 К. Концентрацію бактерицидних речовин змінювали від 0,01 до 1% (мас.). Приєднання ЛФ, як і НК, відбувалося за рахунок взаємодії карбоксильних груп антибіотика з епоксидними групами прищепленого ПГМА:



Дослідження бактерицидної активності мембран з іммобілізованими антибіотиками проводили за раніше відпрацьованою методикою роботи [7] з використанням штамів бактерій Української колекції мікроорганізмів (УКМ), зокрема: *Escherichia coli* BE, *Escherichia coli* НВ 101, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ССМ 485.

Об'ємний потік води крізь мембрани визначали на циліндричній комірці непроточного типу Amicon 8200 (Millipore, США), адсорбцію та десорбцію НК з мембран у воді — за допомогою системи капілярного електрофорезу “Капель-103Р” (“Люмекс”, Росія) у присутності хромово-фосфатного буфера.

Для підтвердження прищеплення ПГМА до целюлозної мембрани проведено ІЧ спектроскопічні дослідження поверхневих шарів зразків мембран до та після модифікування за допомогою спектрометра TENSOR 37, BRUKER методом багаторазового порушеного повного відбиття. Даний метод дозволяє отримати ІЧ-спектри відбиття з поверхневого шару зразка глибиною близько 2–3 мкм.

Якісним підтвердженням наявності ланцюгів ПГМА на поверхні целюлозних мембран є поява в ІЧ-спектрі модифікованого зразка (рис. 1, крива 2) смуги валентних коливань групи С=О при 1745 см^{-1} та смуг при 1255 і 925 см^{-1} , які відповідають валентним коливанням епоксидної групи ПГМА.

Оскільки прищеплення полімерних ланцюгів до поверхні мембран призводить до зменшення ефективного радіуса пор [8] і, відповідно, водопроникності зразків, то про ступінь прищеплення ПГМА опосередковано судили за зміною величини об'ємного потоку води крізь модифіковані мембрани.

Як видно з рис. 2, а об'ємний потік води крізь мембрани максимально зменшується з 46,7 (немодифікована мембрана) до 24,2 $\text{дм}^3/(\text{м}^2 \cdot \text{год})$, при вмісті в реакційному середовищі 10 ммоль/дм³ Ce^{4+} у 0,06 М HNO_3 . Зменшення водопроникності мембран у результаті прищеплення ПГМА спостерігається також при зростанні тривалості його проведення. Так, при модифікуванні мембран протягом 1,5 год їх водопроникність максимально зменшується на 48% відносно немодифікованої мембрани і при подальшому зростанні тривалості модифікування до 3 год водопроникність не змінюється (див. рис. 2, б). Зміна температури реакційного середовища неістотно впливає на перебіг реакції. Так, при кількості в реакцій-

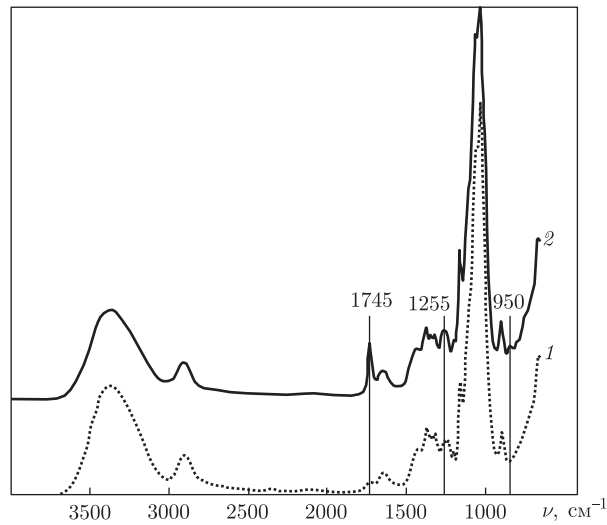


Рис. 1. ІЧ-спектри немодифікованої целюлозної мембрани (1) та целюлозної мембрани з прищепленим ПГМА (2)

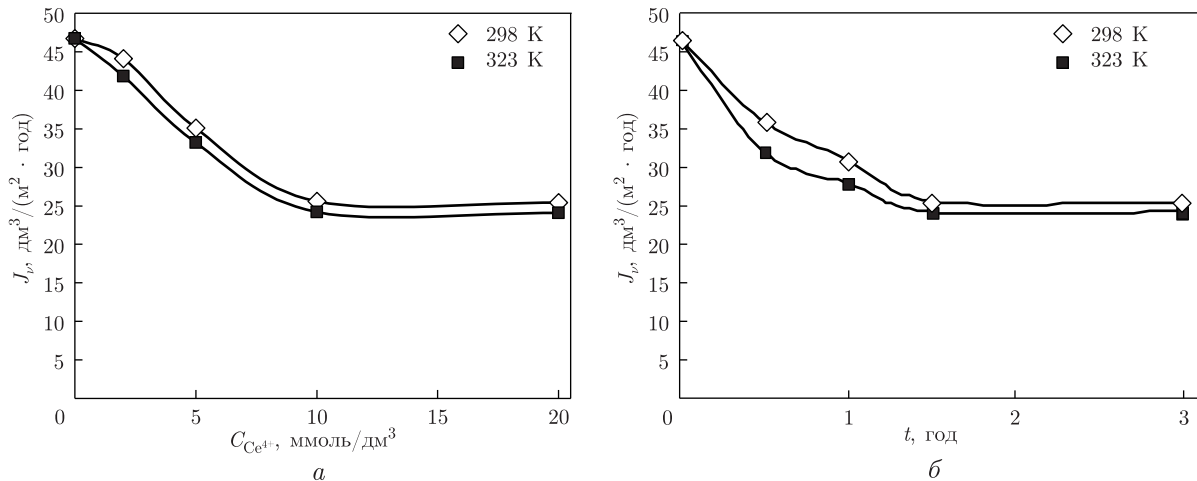


Рис. 2. Залежність об'ємного потоку води крізь мембрану (J_v , $\text{дм}^3/(\text{м}^2 \cdot \text{год})$) від концентрації іонів Ce^{4+} у модифікуючому розчині (а) та тривалості їх модифікування (б). $C_{\text{ГМА}} = 2\%$ (мас.); $\Delta p = 0,2$ МПа

ному розчині $10 \text{ ммоль/дм}^3 \text{ Ce}^{4+}$ водопроникність целюлозних мембран знижується лише на $1,4 \text{ дм}^3/(\text{м}^2 \cdot \text{год})$ при зростанні температури реакційного середовища на 20 К . Отже, за оптимальні умови проведення модифікування при вмісті в реакційному середовищі 2% по масі ГМА було обрано концентрацію Ce^{4+} 10 ммоль/дм^3 у $0,06 \text{ М HNO}_3$, $T = 323 \text{ К}$, тривалість — $1,5 \text{ год}$.

На модифіковані ПГМА целюлозні мембрани було іммобілізовано НК та ЛФ. Методом капілярного електрофорезу встановлено, що при модифікуванні мембран з прищепленим ПГМА НК з її $0,05$; $0,1$ та $0,5\%$ водних розчинів на 1 см^2 мембранної поверхні закріплюється відповідно $1,08$; $1,21$ та $1,31 \text{ мг}$ бактерицидної речовини. Десорбції НК з мембранної поверхні не спостерігається. Досліджено, що адсорбція бактерицидних препаратів на немодифікованих мембранах відсутня.

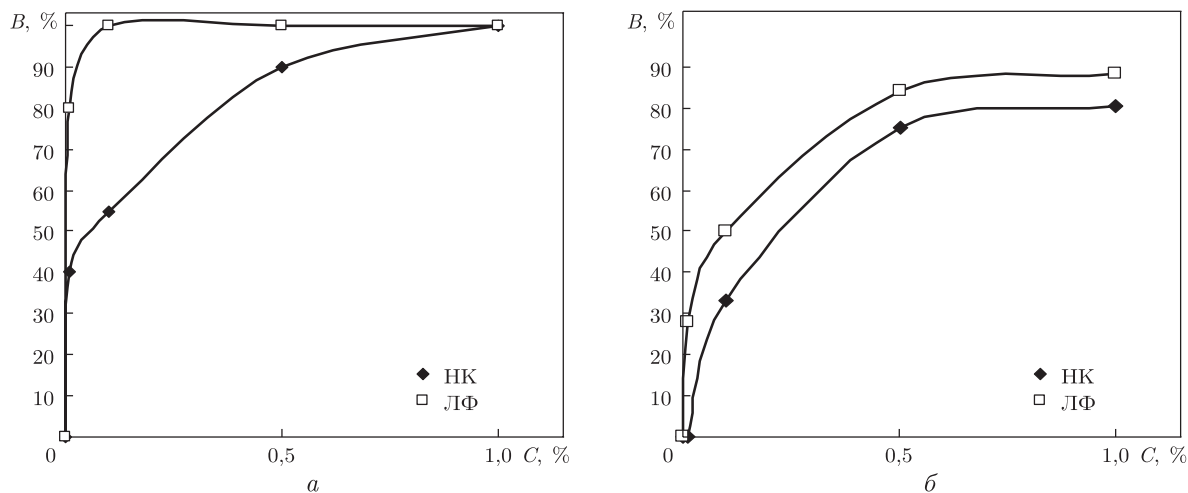


Рис. 3. Залежність бактерицидності (B , %) целюлозних мембран з прищепленим ПГМА від концентрації НК та ЛФ у модифікуючих розчинах відносно *E. coli* (а) та *S. aureus* (б)

Дослідження бактерицидності целюлозних мембран з іммобілізованими НК та ЛФ відносно бактерій *E. coli* та *S. aureus* показали, що при використанні обох бактерицидів вона є нижчою відносно грампозитивних бактерій. Так, мембрани, модифіковані 1% розчином ЛФ, характеризуються 100% бактерицидністю відносно *E. coli* (рис. 3, а) та 88% до *S. aureus* (рис. 3, б). Як видно з рисунка, зі збільшенням концентрації антибіотиків у модифікуючих розчинах, а отже, і кількості прищепленого бактерициду на поверхні мембрани зростає бактерицидна дія мембран як відносно *E. coli*, так і відносно *S. aureus*. Причому бактерицидність мембран з ЛФ є вищою, ніж мембран з іммобілізованою НК. При модифікуванні з 0,1 й 0,5% розчинів антибіотиків бактерицидність мембран до *E. coli* (див. рис. 3, а) відповідно становить 50 й 90%, а при модифікуванні НК — 99,99 і 100% (у випадку модифікування ЛФ). Досліджено, що бактерицидна дія модифікованих мембран зберігається сталою протягом 36 діб експлуатації мембран.

1. Брик М. Т. Питна вода і мембранні технології // Наук. зап. НаУКМА. Хімічні технології. – 2000. – 18. – С. 4–24.
2. Hrasch P., Gorenflo A., Fuder C. et al. Biofouling of ultra – and nanofiltration membranes for drinking water treatment characterized by fluorescence in situ hybridization (FISH) // Desalination. – 2005. – 172. – P. 41–52.
3. Park N., Kwon B., Kim S., Cho J. Biofouling potential of various NF membranes with respect to bacteria and their soluble microbial products (SMP): Characterization, flux, decline, and transport parameters // J. Membr. Sci. – 2005. – 258. – P. 43–54.
4. Tatsuo T. Review. Antibacterial and bacterium adsorbing macromolecules // Macromol. Mater. Eng. – 2001. – 286, No 2. – P. 63–87.
5. Суровцев М. А., Михлин В. С., Лазарянц В. Э. и др. Изучение синтеза полифункциональных метакрилатов на основе глицидилметакрилата // VII Междунар. конф. по химии и физикохимии олигомеров “Олигомеры-2000”: Тез. докл. – Москва: Б. и., 2000. – С. 109–116.
6. Чарушин В. Н. Химия в борьбе с инфекционными заболеваниями // Сорос. образов. журн. – 2000. – 6, № 3. – С. 64–72.
7. Коновалова В. В., Побегай А. А., Брык М. Т., Бурбан А. Ф. Исследование антимикробных свойств мембран, модифицированных хитозаном // Критич. технологии. Мембраны. – 2006. – № 4. – С. 56–61.
8. Xu Z., Wang J., Shen L., Men D., Xu Y. Microporous polypropylene hollow fiber membrane. Part I // J. Polym. Sci. – 2002. – 196. – P. 221–229.