

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

ІММОБІЛІЗАЦІЯ НАЛІДИКСОВОЇ КИСЛОТИ НА УЛЬТРАФІЛЬТРАЦІЙНИХ ЦЕЛЮЛОЗНИХ МЕМБРАНАХ

Розроблено метод іммобілізації налідиксової кислоти на поверхні целюлозних мембран. Іммобілізація відбувалась за рахунок взаємодії налідиксової кислоти з епоксидними групами попередньо прищепленого до целюлозної мембрани полігліцидилметакрилату. Вивчено транспортні та бактерицидні властивості модифікованих мембран. Показано, що прищеплення полігліцидилметакрилату приводить до зменшення продуктивності мембран. Мембрани, модифіковані 0,5% водним розчином натрієвої солі налідиксової кислоти при 323 К, характеризуються 100% бактерицидною дією відносно E. coli.

Вступ

За допомогою мембранної технології успішно розв'язуються технічні та екологічні проблеми, пов'язані з забезпеченням населення питною водою, тонким розділенням сумішей, очисткою стічних вод, водопідготовкою тощо. Однак тривала експлуатація полімерних мембран у системах, які містять продукти біологічного та органічного походження, приводить до їх забруднення за рахунок гелеутворення, що зумовлює зменшення продуктивності мембран, підвищення робочих тисків, часті хімічні промивки. Утворені на поверхні та в порах мембрани гелеві шари є середовищем для розвитку мікроорганізмів, що викликають деструкцію мембран та вторинне забруднення очищеної води.

Погіршення показників роботи полімерних мембран унаслідок утворення на їх поверхні біо-

логічних осадів є однією з найважливіших та найменш досліджених проблем мембранних технологій [1]. Цей тип забруднення мало піддається дослідженню, у зв'язку з цим відчувається нестача ефективних заходів для його запобігання.

Запобігти біологічному забрудненню полімерних мембран, які використовуються для підготовки питної води, досить складно, оскільки, з одного боку, попередня обробка води окисниками може викликати руйнування полімерного матеріалу мембрани, а з іншого боку, використання біоцидних речовин є небажаним через високий ризик їх потрапляння до очищеної води [2]. Одним із нових та перспективних методів отримання біологічно стійких мембран є їх модифікування біоцидними речовинами.

Для полегшення іммобілізації біоцидних речовин на поверхні мембран до них спочатку

прищеплюють сполуки з активними функціональними групами, які легко вступають у реакцію з функціональними групами біоцидів. До таких сполук належить гліцидилметакрилат (ГМА). Вибір ГМА для модифікування мембран пов'язаний із характерною подвійною функціональністю цього реагенту завдяки наявності в його молекулі одночасно подвійного зв'язку та епоксидної групи. Наявність подвійного зв'язку забезпечує можливість полімеризації та кополімеризації ГМА. Епоксидна група у складі його молекули здатна до хімічних перетворень, взаємодіючи з різноманітними сполуками, серед яких карбонові кислоти, аміни, феноли, кетони, галогенпохідні та інші [3]. Крім того, ГМА розчиняється у воді, що дає змогу проводити прищеплення у водному середовищі.

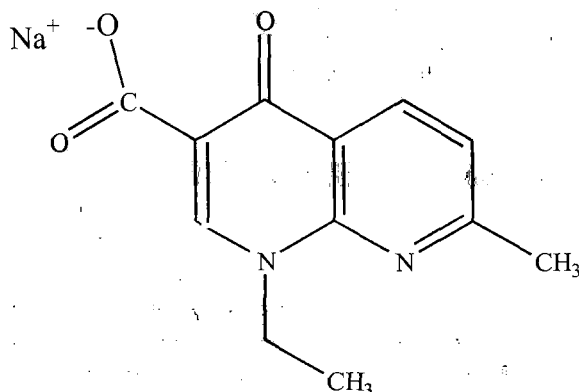
Метою роботи є отримання целюлозних мембран, стійких до біологічного забруднення, шляхом прищеплення до їх поверхні ГМА з наступним модифікуванням налідиксовою кислотою (НК), яка належить до синтетичних антибіотиків класу хінолонів.

1. Матеріали й методи

У роботі використовували целюлозні мембрани типу C010F (Nadir, Німеччина).

Як окисник використовували перйодат натрію NaJO_4 (Aldrich).

Як біоцидний реагент використовували налідиксову кислоту (3-карбоксі-1-етил-7-метил-1, 8-нафтирідин-4-он) (Sigma). Для модифікування мембран застосовували натрієву сіль НК, яку отримували в лабораторних умовах:

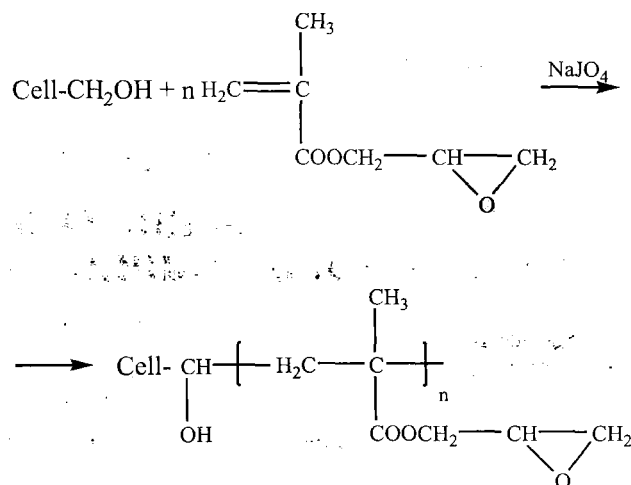


Для визначення коефіцієнту затримання мембран використовували 0,3% водні розчини поліетиленгліколю (ПЕГ) з ММ 6 000 (фірма «LOBA FEINCHEMIE», Австрія).

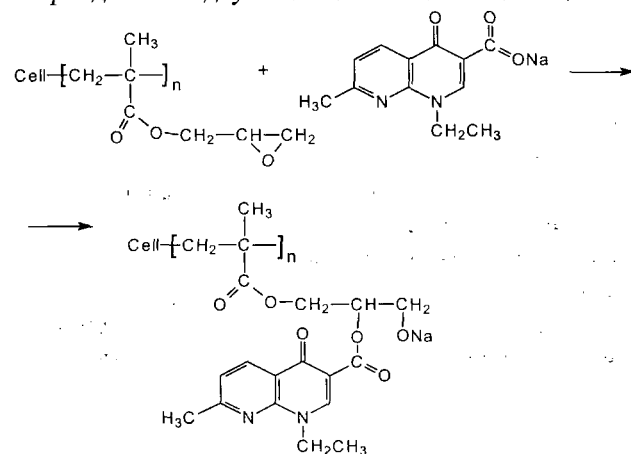
Для визначення розділювальних характеристик мембран використовували циліндричну комірку непроточного типу Amicon 8200, (виробництво Millipore, США).

Прищеплену полімеризацію ГМА на поверхні целюлозних мембран проводили в водному середовищі при температурах 303, 313, 323 К у спеціальній циліндричній комірці, в якій з реакційною сумішшю контактував лише активний шар мембрани. Концентрація ГМА в реакційній суміші становила 2%, концентрацію NaJO_4 змінювали від 0,5 до 30 ммоль/дм³, тривалість прищепленої полімеризації змінювали від 1 до 20 год. Окислення гідроксильних груп целюлози під дією NaJO_4 проходить через стадію утворення макрорадикалів целюлози, які й ініціюють прищеплену полімеризацію ГМА на поверхні мембран [4]. Полімеризацію припиняли промиванням мембран у дистильованій воді.

Схема прищеплення ГМА:



Зразки мембран із прищепленим ГМА площею $2,64 \cdot 10^{-3} \text{ м}^2$ витримували у водних розчинах натрієвої солі НК із початковими концентраціями 0,01; 0,1; 0,15; 0,5%. Модифікування проводили при 303 та 323 К, тривалість модифікування становила 20 год, об'єм модифікуючого розчину складав $30 \cdot 10^{-9} \text{ м}^3$. Після модифікування мембрани промивали дистильованою водою і вимірювали об'ємний потік дейонізованої води крізь них. Приєднання відбувалося за такою схемою:



Для дослідження бактерицидної активності мембран із іммобілізованою НК щодо грамнегативних бактерій використовували штами бактерій Української колекції мікроорганізмів (УКМ), зокрема: *E. coli* BE, *E. coli* HB 101, *E. coli*.

Бактерицидну активність мембран визначали фільтруванням суспензії добових тест-культур у фізіологічному розчині крізь досліджувану мембрану до сухого залишку. Фільтрацію проводили в установці непроточного типу при перемішуванні розчину об'ємом 0,1 дм³ і площею мембрани 26,4·10⁻⁴ м². Робочий тиск становив 0,2 МПа, робоча температура – 298 К. Культуру вирощували на середовищі МПА (Serva) та вносили у фізіологічний розчин із концентрацією приблизно 10⁵–10⁶ клітин/л. Контролем була немодифікована мембрана. Після фільтрації мембрану інкубували на середовищі Ендо (Fluka) при 303 К упродовж доби. Бактерицидну активність визначали як відсоток колонієутворювальних одиниць на модифікованій мембрані відносно контрольної.

2. Експериментальна частина

Про ступінь прищеплення ГМА можна опосередковано судити за зменшенням продуктивності мембран після прищеплення відносно немодифікованої мембрани [5, 6]. Як видно з рис. 1а, продуктивність мембрани максимально зменшується на 24% порівняно з немодифікованою мембраною при вмісті в реакційному середовищі 10 ммоль/дм³ NaJO₄. Це зменшення продуктивності мембран після прищеплення ПГМА спостерігається при тривалості їх модифікування 20 год, і при подальшому зростанні часу витримки мембрани в реакційній суміші до 28 год не змінюється (рис. 1б). Зміна температури несуттєво впливає на перебіг реакції. Так, при кількості в реакційному розчині 10 ммоль/дм³ NaJO₄ зменшення продуктивності целюлозних мембран становить 24,06 та 22,08% для 323 К та 303 К відповідно. Коефіцієнт затримки целюлозною мембраною ПЕГ-6000 зростає зі збільшенням вмісту в реакційній суміші NaJO₄ (рис. 2) від 65% (немодифікована целюлозна мембрана) до 96,1% при вмісті у розчині 10 ммоль/дм³ NaJO₄.

Отже, з огляду на викладене вище, найефективніше прищеплення ПГМА відбувається за наявності в 2% (мас.) водному розчині ГМА 10 ммоль/дм³ NaJO₄ та тривалості реакції 20 год при 323 К.

На модифіковані ПГМА целюлозні мембрани С010F було іммобілізовано НК. Препарати хінолонового ряду проникають крізь клітинні мембрани та селективно впливають на розмноження бактерій шляхом інгібування бактеріальної ДНК-

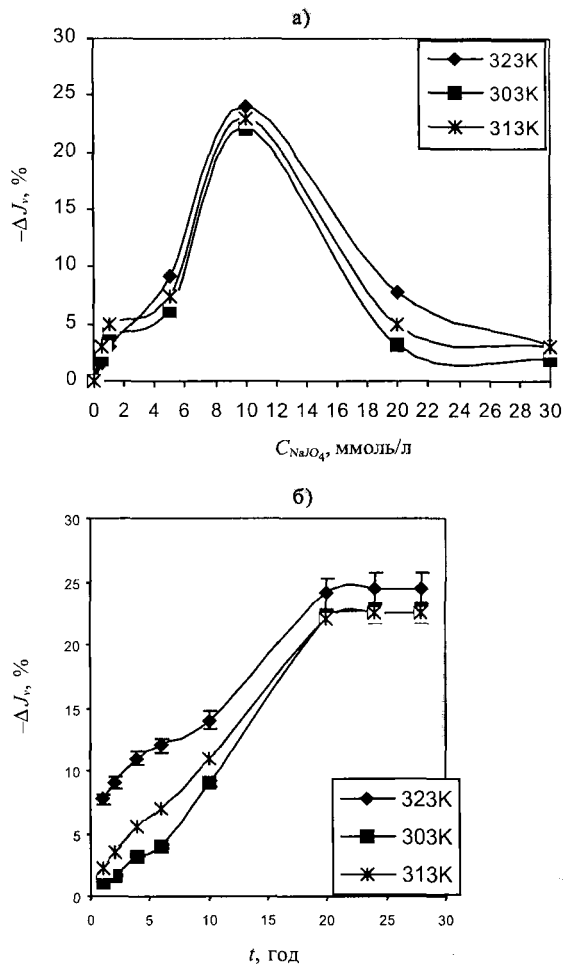


Рис. 1. Залежність зміни величини об'ємного потоку води ($-\Delta J_v$, %) крізь мембрану від концентрації NaJO₄, $t = 20$ годин (а) та від тривалості модифікування, $C_{NaJO_4} = 10$ ммоль/дм³ (б). $C_{ГМА} = 2\%$ (мас.). $\Delta P = 0,2$ МПа

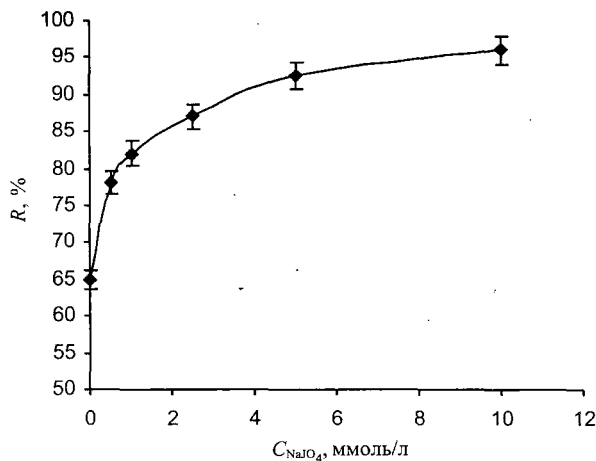


Рис. 2. Залежність коефіцієнту затримки ПЕГ₆₀₀₀ мембраною, модифікованою ПГМА, від концентрації NaJO₄ у реакційній суміші. $\Delta P = 0,2$ МПа

гірази – ферменту, який відповідає за розірвання та відновлення суперскрученої спіралі ДНК. Згідно зі сучасними уявленнями [7], молекули хінолону зв'язуються з ДНК, утворюючи складний комплекс із чотирьох молекул хінолону,

Таблиця 1. Дослідження бактерицидної активності целюлозних мембран із прищепленим ПГМА та іммобілізованою НК

Зразок мембрани	T, К	Концентрація натрієвої солі НК, %	Ріст бактерій			Бактерицидність, %
			<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i> HB 101	<i>E.coli</i> BE	
1	303	0,01	+++	++	+++	40
		0,1	++	+	+++	55
		0,15	+	+	++	86
		0,5	+	+	++	88
2	323	0,01	+	+	++	75
		0,1	+	-	+	98
		0,15	+	-	-	99,99
		0,5	-	-	-	100
Контроль		0	++++	++++	++++	0

подвійної спіралі ДНК та ДНК-гірази. Створення такого комплексу відбувається саме в ту мить, коли гіраза здійснює розривання обох ланцюгів ДНК. Тим самим порушується процес розмноження бактерій.

Дослідження бактерицидної дії мембран, модифікованих ПГМА з іммобілізованою НК, до грам-негативної бактерії *E. coli* показує, що найменший ріст колоній досліджуваних бактерій спостерігався на мембранах, на яких іммобілізація НК відбувалася при температурі 323 К (табл. 1). Очевидно, що при підвищеній температурі іммобілізація відбувається ефективніше, і до епоксидних груп ПГМА приєднується більша кількість НК, що і зумовлює вищий показник бактерицидності. 100% бактерицидною активністю характеризуються мембрани з прищепленим ПГМА, іммобілізація на яких відбувається з 0,5% (мас.) водного розчину натрієвої солі НК при 323 К.

Висновки

У результаті проведених експериментальних досліджень розроблено методику модифікування ультрафільтраційних промислових целюлозних мембран прищепленням ГМА з наступною іммобілізацією НК. Показано, що оптимальними параметрами проведення прищепленої полімеризації ГМА до поверхні мембран є концентрація у реакційній суміші 10 ммоль/дм³ NaJO₄ та тривалість реакції 20 год при 323 К. Досліджено транспортні та бактерицидні властивості отриманих мембран. Показано, що прищеплення ПГМА до поверхні мембран приводить до зменшення їх продуктивності. Встановлено, що 100% антимікробною активністю відносно грам-негативної бактерії *E. coli* характеризуються мембрани з прищепленим ПГМА, іммобілізація на яких відбувалася з 0,5% водного розчину натрієвої солі НК при температурі 323 К.

Роботу виконано за підтримки проекту УНТЦ № 2476.

1. Первое А. Г., Андрианов А. П., Телитченко Э. А. Влияние биологического загрязнения на работу обратноосмотических и ультрафильтрационных мембранных элементов // Критические технологии. Мембраны.- 2004.- № 1.-С. 3-18.
2. Hrasch P., Gorenflo A., Fuder C., Deleage A., Frimmel F. H. Biofouling of ultra- and nanofiltration membranes for drinking water treatment characterized by fluorescence in situ hybridization (FISH) // Desalination.- 2005.- V. 172.- P. 41-52.
3. Суrowцев М. А., Михлин В. С, Лазаряни В. Э., Ферштут Е. В., Яблонский О. П., Суrowцева Т. Г. Изучение синтеза полифункциональных метакрилатов на основе глицидилметакрилата // Седьмая международная конференция по химии и физикохимии олигомеров «Олигомеры-2000»: Тезисы докладов.- Москва-Пермь-Черноголовка.-2000,-С. 109-116.
4. Морин Б. П., Роговин З. А. Новые окислительно-восстановительные системы в синтезе привитых сополимеров целлюлозы//Высокомолекулярный соед.-Серия А.- 1976,-Т. 10.- С. 2147-2160.
5. Xu Z., Wang J., Shen L., Men D., Xu Y. Microporous polypropylene hollow fiber membrane. Part I: Surface modification by the graft polymerization of acrylic acid // J. Polym. Sci.- 2002.- V. 196.- P. 221-229.
6. Побідай Г. А., Коновалова В. В., Бурбан А. Ф., Брик М. Т. Модифікування ацетатцелюлозних мембран та вивчення їх антибактеріальних властивостей // Полімерний журнал.- 2005.- Т. 127.- № 4.- С. 236-241.
7. Чарушин В. Н. Химия в борьбе с инфекционными заболеваниями // Соросовский образовательный журнал.- 2000.- Т. 6.- № 3,- С. 64-72.

G. Pobigay, O. Chyketa, A. Burban

**, IMMOBILIZATION OF NALIDIXIC ACID
ON ULTRAFILTRATION CELLULOSE MEMBRANES**

The immobilization of nalidixic acid to the surface of ultrafiltration cellulose membranes has been developed. Nalidixic acid were immobilized on membranes due to creation of the covalent bond between nalidixic acid with polyglycedulmethacrylate, preliminary attached to the surface of cellulose membrane. Transport and antibacterial properties of modified membranes has been studied. It has been shown that graft polyglycedulmethacrylate, result in reduce membrane productivity. The membranes modifying by 0, 5% NA solution at 323K have 100% antimicrobial properties.