

## COMPARISON OF $\alpha$ -AMYLASE MICROENCAPSULATION IN ALGINATE MICROCAPSULES

*Sodium alginate microcapsules with  $\alpha$ -amylase were obtained by extrusion, microemulsion and "layer-by-layer" methods. Kinetics of enzyme release from microcapsules in acidic and neutral environments was investigated.*

**Key words:** microencapsulation, microemulsion method, extrusion method, "layer-by-layer" method, sodium alginate,  $\alpha$ -amylase.

*Матеріал надійшов 20.01.2013*

УДК 678.745.3:544.725.7:542.816

*Потворова Н. В., Вакулюк П. В., Фуртат І. М., Бурбан А. Ф.*

## ІММОБІЛІЗАЦІЯ ЙОДУ НА ПОВЕРХНІ МОДИФІКОВАНИХ N-ВІНІЛПРОЛІДОМ ПОЛІАКРИЛОНІТРИЛЬНИХ МЕМБРАН

*Розроблено методику іммобілізації йоду на поверхню поліакрилонітрильних (ПАН) мембран, попередньо модифікованих УФ-ініційованою прищепленою полімеризацією N-вінілпролідону до поверхні. Досліджено транспортні, функціональні та антибактеріальні властивості отриманих мембран. Наявність прищепленого полівінілпролідону (ПВП) підтверджено ІЧ-спектроскопічними дослідженнями та зміною гідрофільності поверхні мембран. Встановлено, що мембрани з отриманим на поверхні комплексом полівінілпролідон- $I_3$  характеризуються тривалою бактерицидною дією щодо грамнегативних бактерій *Escherichia coli* HB 101.*

**Ключові слова:** поліакрилонітрильні мембрани, іммобілізація йоду, УФ-ініційована прищеплена полімеризація, бактерицидна активність.

### Вступ

Мембранна технологія широко та успішно застосовується у таких галузях промисловості, як медицина, фармацевтика, водопідготовка, очищення стічних вод, опріснення води. Перевагою згаданої технології є її висока ефективність, простота у використанні, економічність та екологічність [1].

Поліакрилонітрильні (ПАН) мембрани також інтенсивно використовуються у мембранній технології в процесах розділення компонентів та фракціонування завдяки поєднанню механічної міцності, хімічної та фізичної стійкості. Крім того, ПАН мембрани виявляють біосумісність, завдяки чому широко використо-

вуються для гемодіалізу [2].

Тривала експлуатація мембрани та різна природа розчинів, які фільтрують, призводить до колонізації поверхні цих мембран мікроорганізмами. Останні формують на поверхні мембрани біоплівку, яка призводить до зменшення проникності мембран через блокування пор та спричиняє вторинне забруднення очищеної води продуктами метаболізму мікроорганізмів. Тому, для запобігання біозабрудненню поліакрилонітрильних мембран важливим є розроблення методів модифікування їхньої поверхні антибактеріальними реагентами [3].

Антибактеріальною активністю характеризується значна кількість природних та синтетичних сполук, однак тільки деякі з них мо-

жуть бути використані для іммобілізації на поверхні ПАН мембран через нетоксичність, збереження протягом тривалого періоду антибактеріальних властивостей та широкий спектр їхньої антибактеріальної дії [4]. З огляду на це, перспективними для іммобілізації на поверхні мембран є нетоксичний антисептичний препарат йод, який ефективно пригнічує ріст та розвиток бактерій внаслідок руйнування їх клітинних стінок [5].

Для іммобілізації йоду на поверхні ПАН мембрани необхідно створити на ній хімічно активні групи для подальшого його ефективного зв'язування [6, 7]. Одним із таких методів є УФ-ініційоване прищеплення N-вінілпіролідону, який утворює міцний комплекс із йодом (йодофор) [8].

Враховуючи вищевикладене, метою роботи було отримати гідрофільні ПАН мембрани із антибактеріальною активністю шляхом іммобілізації йоду на поверхню мембран, попередньо модифікованих УФ-ініційованою прищепленою полімеризацією N-вінілпіролідону, та дослідити функціональні, транспортні та бактерицидні характеристики модифікованих мембран.

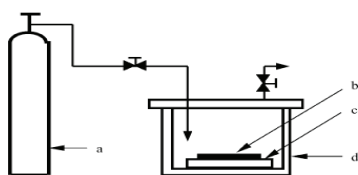
### Матеріали та методи

**Мембрани.** Були використані поліакрилонітрильні мембрани з середнім діаметром пор 100 мкм.

**Речовини для модифікування.** Для модифікування використовували: ініціатор полімеризації бензофенон (БФ) (Fluka, Німеччина), мономер N-вініл-2-піролідон (ВП) (Fluka, Німеччина). Для надання мембрані антибактеріальних властивостей було використано водно/спиртовий (70:30) розчин KI-I<sub>2</sub> (Fluka, Німеччина).

**Обладнання та розрахунки.** Для дослідження об'ємного потоку води (J<sub>v</sub>, л/(м<sup>2</sup>×год) крізь мембрану використовували стандартну циліндричну комірку непроточного типу Amicon 8200 (виробництво Millipore Corporation, США).

Для УФ-ініційованої прищепленої полімеризації застосовували фотохімічний реактор (рис.1).



**Рис. 1.** Комірка для УФ-ініційованого прищеплення мономерів (а - балон з аргоном, б - мембрана, с - ємність із розчином мономера, d - кварцова комірка)

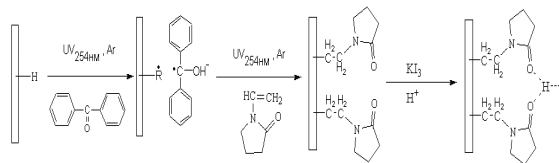
Ступінь прищеплення (СП<sub>ПВП</sub>, %) ПВП розраховували за формулою:

$$СП_{ПВП} = \frac{M_{\text{модиф.}} - M_0}{M_0} \cdot 100,$$

де M<sub>0</sub> - маса вихідної мембрани; M<sub>модиф.</sub> - маса модифікованої мембрани.

**Модифікування мембран.** Модифікування мембран проводили у дві стадії: на першій стадії мембрани витримували в етанольному розчині фотоініціатора бензофенону концентрацією 1-6% (мас.) протягом 5-40 хв. На другій стадії здійснювали прищеплення N-вінілпіролідону (ВП) з його водних розчинів концентрацією 1-30% (мас.) шляхом УФ-ініційованої прищепленої полімеризації протягом 5-40 хв при температурі 40±5°C в атмосфері аргону. Після закінчення реакції мембрану відмивали у дистильованій воді протягом 6 год.

**Імобілізація йоду.** ПАН мембрани з прищепленим до поверхні ПВП занурювали у водно/спиртовий (70:30) розчин KI-I<sub>2</sub> при кімнатній температурі та витримували протягом 10-1440 хв, після чого відмивали протягом 24 год. у дистильованій воді від надлишкового та адсорбованого йоду. Загальну хімічну реакцію проводили за такою схемою:



**Вимірювання крайових кутів змочування методом сидячої краплі.** Гідрофільність мембран вивчали шляхом вимірювання крайових кутів змочування за методом сидячої краплі.

**Інфрачервона спектроскопія (ІЧ-спектроскопія).** Дослідження поверхневих шарів зразків мембран проводили на спектрометрі UR-20 методом багаторазового порушеного повного відбиття (МБППВ) із використанням приставки МБППВ. Цей метод дозволяє отримати ІЧ-спектри відбиття з поверхневого шару зразка до глибини близько 2-3 мкм.

**Визначення ζ-потенціалу мембрани.** Вимірювання поверхневого заряду (ζ- потенціал мембран) проводили на електрокінетичному аналізаторі (ЕКА, Anton Paar GmbH) відносно 1×10<sup>-3</sup> М розчину KCl.

**Визначення бактерицидних властивостей мембрани.** Бактерицидну активність мембран визначали щодо штаму *Escherichia coli* НВ 101. У досліджах застосовували добову культуру

ру бактерій, вирощену на поживному агарі (Difco, США), з якої виготовляли суспензію клітин у фізіологічному розчині NaCl концентрацією 10<sup>6</sup> кл./мл, суспензію клітин стандартизували спектрофотометрично із застосуванням денситометра DEN-1 (Biosan, Латвія). Після розведення до концентрації 10<sup>3</sup> кл./л суспензію об'ємом 100 мл пропускали крізь досліджувану мембрану до сухого залишку. Після фільтрації мембрану інкубували на діагностично-диференційному середовищі Ендо за температури 37°C протягом доби. Бактерицидну активність визначали як відсоток колонієутворювальних одиниць, що виростили на дослідженій мембрані, порівняно з контролем. Контролем слугувала немодифікована мембрана.

### Результати та обговорення

Для проведення іммобілізації анти-бактеріальних сполук на поверхні чи у порах мембрани необхідно попередньо прищепити до поверхні речовини із комплементарними до бактерицидних сполук групами. При цьому відбувається монофункціоналізація поверхні мембран або утворення на поверхні шару з реакційноздатними групами полімеру-модифікатора, здатними до подальшого зв'язування із антибактеріальним агентом. Одним з методів такого активування поверхні є УФ-ініційована прищеплена полімеризація, що дозволяє прищепити до поверхні мембрани полімери з функціональними групами, які виконуватимуть роль фіксаторів анти-бактеріальної сполуки.

Для отримання на поверхні полі-акрилонітрильних мембран функціональних груп для зв'язування йоду проводили іммобілізацію N-вініл-2-піролідону шляхом УФ-фотоініційованої прищепленої полі-меризації. Як ініціатор використовували спиртовий розчин бензофенону. У результаті прищеплення мономера ВП до поверхні ПАН мембрани було

з'ясовано, що ступінь прищеплення ВП залежить від таких чинників, як концентрація ініціатора, мономера та тривалість УФ-ініційованої полімеризації. Вплив концентрації ініціатора полімеризації бензофенону у розчині на ступінь прищеплення ПВП наведено у табл. 1.

У результаті показано, що збільшення концентрації БФ від 1 до 2% призводить до зростання ступеня прищеплення ПВП (мас.) (табл.1). Таку залежність можна пояснити збільшенням кількості адсорбованого БФ на поверхні мембрани, і, відповідно, активних центрів, які утворюються в умовах полімеризації. Слід зазначити, що після витримування мембрани в розчинах БФ концентрації вищій за 6%, втрачається її механічна міцність. Тому, подальше підвищення концентрації ініціатора є недоцільним. Також було встановлено, що зі збільшенням тривалості витримування мембрани у розчині ініціатора кількість прищепленого ВП зростає і набуває сталого значення при 15 хв. Це свідчить про те, що відбувається повне адсорбційне насичення молекулами БФ поверхні мембрани.

Вивчення ступеня прищеплення ПВП залежно від концентрації мономера ВП засвідчує, що з підвищенням концентрації розчину ВП від 1 до 30% збільшується кількість прищепленого полімеру та зростає маса мембрани (табл.2). Однак за концентрації ВП вищій, ніж 30%, кількість прищепленого ПВП зменшується. Це може бути пов'язане із переважанням процесу гомополімеризації у розчині, адсорбцією гомополімеру та мономера до поверхні без утворення ковалентного зв'язку та уповільненням дифузії мономера до поверхні мембрани крізь утворений шар прищепленого кополімеру.

Вивчення впливу тривалості процесу прищеплення ПВП до ПАН мембрани на ступінь прищеплення ПВП показало, що зі збільшенням терміну полімеризації кількість іммобілізованого ПВП зростає, однак цей процес від-

Таблиця 1. Вплив концентрації БФ ( $C_{\text{БФ}}$ , %) та тривалості витримування мембрани в розчині БФ ( $\tau$ , хв.) на ступінь прищеплення ПВП ( $СП_{\text{ПВП}}$ , %) до поверхні ПАН мембран

$C_{\text{БФ}}$ , %	$СП_{\text{ПВП}}$ , % (мас)*		
	$\tau$ , хв		
	5	10	15
0	0	0	0
1	1,6	2,8	6,0
2	2,6	4,2	5,9
6	4,1	5,3	6,0

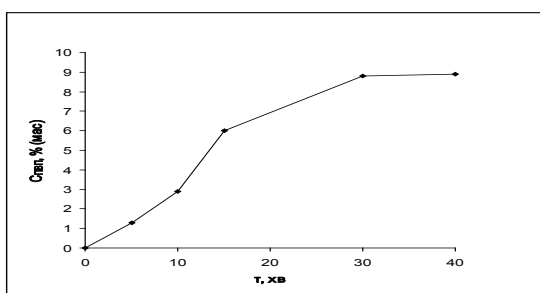
\*Для прищеплення було використано 1% розчин мономера ВП.

Таблиця.2. Вплив концентрації розчину ВП ( $C_{ВП}$ , %) на ступінь прищеплення ПВП ( $C_{ПВП}$ , %)

$C_{ВП}$ , %	$C_{ПВП}$ , %*
0	0
1	1,8
5	4,9
10	6,0
30	7,4

\*Тривалість прищепленої полімеризації – 15 хв. Концентрація БФ – 1%.

бувається тільки до певного значення (тривалість модифікування 30 хв.) і в подальшому цей показник залишається сталим (рис.2).

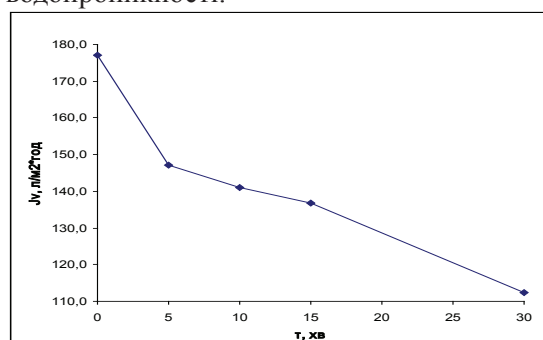
Рис. 2. Вплив тривалості УФ-ініційованої прищепленої полімеризації ВП ( $\tau$ , хв) на ступінь прищеплення ПВП до мембрани ( $C_{ПВП}$ , %)

Таке явище пов'язане зі збільшенням в'язкості утвореного кополімеру біля поверхні мембрани та гомополімеру у розчині [7]. Внаслідок цього нові порції мономера не здатні дифундувати до поверхні й приєднуватися до ланцюга ПВП, що перебуває в стані росту.

Як відомо, внаслідок прищепленої полімеризації до поверхні мембрани спостерігається зниження її продуктивності, що може бути пов'язане як із формуванням на поверхні додаткового полімерного шару ПВП, так і зі зменшенням ефективного радіусу пор мембрани внаслідок неселективного прищеплення полімерних ланцюгів як до мембранної поверхні, так і до внутрішньої поверхні пор.

У зв'язку з цим нами було досліджено вплив прищеплення N-вінілпіролідону на транспортні характеристики ПАН мембран. Встановлено, що тривалість УФ-ініційованої прищепленої полімеризації ПВП до поверхні ПАН мембран призводить до зміни їхньої водопроникності (рис. 3), а саме: чим тривалішим є процес прищеплення ПВП до мембрани, тим меншим стає значення об'ємного потоку води крізь мембрану. Крім того, подальше збільшення тривалості прищеплення (понад 30 хв) не впливає на показник

водопроникності.

Рис. 3. Залежність об'ємного потоку води ( $J_v$ , л/м<sup>2</sup>год) крізь мембрану із прищепленою ПВП від тривалості прищепленої полімеризації ( $\tau$ , хв) ( $C_{ВП}$  10%,  $C_{БФ}$  1%)

Зміни хімії поверхні мембрани в результаті модифікування визначали методом ІЧ-спектроскопії. Було встановлено, що на ІЧ-спектрах поверхні мембрани з'являється смуга поглинання 1655 см<sup>-1</sup>, яка відповідає коливанням амідкарбонільної групи у кільці N-вініл-2-піролідону.

Прищеплення ПВП як гідрофільного полімеру впливає також і на величину крайового кута змочування. Так, для немодифікованої ПАН мембрани кут змочування становить 86±3°, тоді як для модифікованої ПВП 52±3°. Отримані результати свідчать про гідрофілізацію поверхні модифікованої мембрани порівняно з немодифікованою ПАН мембраною.

Аналіз отриманих даних дає змогу стверджувати, що УФ-ініційована полімеризація ВП є ефективною для модифікування ПАН мембран. Під час досліджень було встановлено, що оптимальними умовами прищепленої полімеризації ВП, за яких досягається значне прищеплення ПВП є: концентрація розчину БФ 1 %, тривалість опромінювання 15 хв та концентрація розчину ВП 10%.

Амідкарбонільні групи, що утворилися внаслідок іммобілізації ВП на поверхні ПАН мембран, у подальшому були використані як реакційноздатні центри для зв'язування йоду. Тому, на наступному етапі роботи було отримано поліакрилонітрильні мембрани із антибактеріальними властивостями. Для цього на модифіковану полівінілпіролідонем ПАН мембрану іммобілізували йод.

Антибактеріальні властивості ПАН мембран із прищепленою ПВП та йодом вивчали щодо штаму *Escherichia coli* НВ 101. У результаті визначення антибактеріальних властивостей комплексу ПВП-І<sub>3</sub>, який утворився на ПАН мембрані, було з'ясовано, що на цей показник впливає два чинники, а саме - концентрація розчину KI-I<sub>2</sub>, з якого на мембрані утворюється-



Таблиця 3. Залежність бактерицидності ПАН мембрани із іммобілізованим йодом від тривалості формування комплексу ПВП-І<sub>3</sub>

Тривалість модифікування ПАН-ПВП мембрани у розчині йоду, хв	0	1	15	30	60	180
Бактерицидність	++++	++	-	-	-	-

Примітки: “-” - ріст мікроорганізмів відсутній, “+” – поодинокі колонії, “++++” – суцільний ріст; на немодифікованій ПАН мембрані спостерігався суцільний ріст мікроорганізмів.

ся комплекс, та тривалість утворення такого комплексу. Було встановлено, що для отримання бактерицидної ПАН мембрани концентрація розчину йоду становить  $10^{-3}$  моль/л. Особливість отриманого комплексу полягає у тому, що він утворюється практично миттєво (мембрана забарвлювалася у жовтий колір) і зберігається протягом 40 діб витримання її у дистильованій воді. Отримані результати свідчать про те, що упродовж 15 хв. утворення комплексу ПВП-І<sub>3</sub> мембрана набуває 100 % бактерицидності, яка залишається стабільною при збільшенні часу формування цього комплексу (табл. 3). Крім того, вимірювання крайового кута змочування показало, що утворений комплекс змінює гідрофільність ПАН мембрани, причому значення кута змочування змінюється до  $43 \pm 3^\circ$ .

Крім наявності бактерицидної активності у

мембран, велике значення має тривалість її збереження, що було досліджено для мембран із комплексом ПВП-І<sub>3</sub> (табл. 4).

Результати досліджень показали, що бактерицидні властивості ПАН мембран з отриманим комплексом залишаються стабільними упродовж 40 діб, протягом яких ріст бактерій штаму *Escherichia coli* HB 101 був відсутнім. При тривалішому застосуванні модифікованих мембран спостерігався несуттєвий ріст побічних бактерій (поодинокі колонії, які іммобілізувались на мембранній поверхні протягом інкубаційного періоду в нестерильних умовах). Це дає підставу стверджувати про тривалу стійкість комплексу та незначне вимивання йоду із поверхневого шару, що в результаті дозволяє використовувати такі мембрани на практиці.

Таблиця 4. Залежність бактерицидної активності ПАН мембран із комплексом ПВП-І<sub>3</sub> від тривалості їх витримання у воді ( $\tau$ , діб)

$\tau$ , діб	10	20	30	40	50	60
Бактерицидність	-	-	-	-	+	+++

Примітки: “-” - ріст мікроорганізмів відсутній, “+” – поодинокі колонії, “++++” – суцільний ріст; на немодифікованій ПАН мембрані спостерігався суцільний ріст мікроорганізмів.

### Висновки

Отже, нами розроблено методику іммобілізації йоду на поверхні ПАН мембран із попередньо прищепленим УФ-ініційованою полімеризацією ПВП. Встановлено, що ступінь прищеплення ПВП залежить від концентрації

ініціатора, мономера, тривалості прищеплення та впливає на транспортні й фізико-хімічні характеристики отриманих мембран. Показано, що отриманий на поверхні комплекс ПВП-І<sub>3</sub> є ефективним для надання ПАН мембранам антибактеріальних властивостей, які зберігаються протягом тривалого часу.

### Список літератури

- Sengbusch G. Focusing on membranes / G.Sengbusch, S.Bowry, J.Viencken // *Artif. Organs* . – 1993. – Vol. 17. – P. 244-252.
- Schamag N. Polyacrylonitrile (PAN) membranes for ultra- and microfiltration / N.Schamag, H.Buschatz // *Desalination*. – 2001. – Vol. 139 – P. 191-198.
- Buchenska J. Polyamide Fibers (PA6) With Antibacterial Properties / J.Buchenska // *Appl. Polym. Sci.* – 1996. – Vol. 61. – P.567-576.
- Ved H. A new type of antibacterial agent which stimulates autolysin activity in *Streptococcus faecium* ATCC 9790 / H. Ved, E.Gustow, V.Mahadevan // *J. Biol Chem.* - 1984. – Vol. 10. – P. 8115–8121.
- Suzuki T. Disinfection Mechanism of Triiodide Type Anion-exchanger / Suzuki T., T.Fan L. // *J. Ferment. Technol.* – 1979. – Vol. 57. – P. 578-581.
- Nakagawa Y. Adsorption of *Escherichia coli* onto insolubilized lauryl pyridinium iodide and its bacteriostatic action. / Y. Nakagawa, T.Tawaratani, I.Shibasaki // *Appl Environ Microbiol.* – 1984. - Vol. 47(1) – P. 88–93.
- Frahn J. Photo-initiated generation of a selective layer on polyacrylonitrile (PAN) composite membranes / J.Frahn, G.Malsch, H.Schwarz // *Journal of Materials Processing Technology*. – 2003. – Vol. 143. – P.277-280.
- Вакулюк П.В. Модифікування поверхні трекових мембран УФ-ініційованою прищепленою полімеризацією N-вінілпіролідону/ Вакулюк П.В. // *Наукові записки НАУК-МА. Хімічні науки та технології*. – 2008. – Т. 79 – С. 24-29.

*N.Potvorova, P.Vakuliuk, I.Furtat, A. Burban*

## IODINE IMMOBILIZATION ON THE SURFACE OF POLACRYLONITRILE MEMBRANES, MODIFIED BY UV-INITIATED GRAFT POLYMERIZATION OF N-VINYLPYRROLIDONE

*A method of iodine immobilization on the surface of polyacrylonitrile (PAN) membranes, previously modified by UV-induced graft polymerization of N-vinylpyrrolidone on the surface, is developed. Transport, functional and antibacterial properties of the membranes is investigated. Chemical grafting of N-vinylpyrrolidone to the membrane surface is proved by IR-spectroscopy and measuring of the membrane contact angles. It was established that complex of the polyvinylpyrrolidone-I<sub>3</sub> have the prolonged antibacterial properties relatively to gram-negative bacterium Escherichia coli HB 101.*

**Key words:** polyacrylonitrile membranes, iodine immobilization, UV-induced graft polymerization, antibacterial properties.

*Матеріал надійшов 20.01.2013*

УДК 542.816:66.081

*Петрук В. В., Вакулюк П. В., Бурбан А. Ф.*

## ПОРОЖНИСТОВОЛОКОННІ МЕМБРАНИ ТА МОДУЛІ ДЛЯ МЕМБРАННО-ДИСТИЛЯЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ

*Проведено аналіз теоретичних та експериментальних досліджень мембранної дистиляції (МД). Особливо увагу приділено властивостям гідрофобних мембран та їх формуванню. На основі проведеного аналізу зроблено висновки про перспективні наукові та технологічні розробки з отримання мембран та модулів для мембранно-дистиляційних процесів.*

**Ключові слова:** мембранна дистиляція, порожнистоволоконні мембрани, фторовмісні полімери.

### Вступ

Капілярні або пласкі мікропористі гідрофобні мембрани, які були розроблені насамперед для мікрофільтраційних процесів, зазвичай виготовляють з поліпропілену, полівініліденфлуориду та політетрафлуоретилену [1]. Незважаючи на суттєві переваги МД над багатьма методами очищення та знесолення вод, наразі існує дуже обмежена кількість публікацій, присвячених темі розробки мембран спеціально для МД. Протягом тривалого часу для МД використовували гідрофобні мікрофільтраційні мембрани, які за цілою низкою показників не відповідали вимогам МД процесів. У зв'язку з цим існує гостра потреба в розробці

таких мембран, які могли б сприяти широкому використанню МД у промисловості.

З точки зору теплопередачі найбільш вигідним типом мембран є порожнистоволоконні. Так, для цього типу мембран за внутрішнього діаметру пор 0,3 мм коефіцієнт теплової поляризації досягає 0,8 при значенні критерію Рейнольдса 300. Якщо ж внутрішній діаметр пор становить 1 мм, для досягнення значення коефіцієнта теплової поляризації 0,85 необхідно значення критерію Рейнольдса 3000 [2]. Таким чином, для ефективності МД процесів важливі не лише характеристики поруватої структури мембрани, а й також її морфологія, особливості будови і конструкції мембранних