



Биолог. журн. Армении, 2 (68), 2016

ОБЕЗЗАРАЖИВАЮЩИЕ СВОЙСТВА НАНОКОМПОЗИТНОГО ФИЛЬТРА НА ОСНОВЕ ПОРИСТОГО МИНЕРАЛА ТУФА И НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ФИЛЬТРАЦИИ БОЛЬШИХ ОБЪЕМОВ ВОДЫ

Н.С. МНАЦАКАНЯН¹, А.А. ТРЧУНЯН²

¹“ТОНУС-ЛЕС” ООО “ЭФДИЭЙ ЛАБ” испытательная лаборатория
²ЕГУ, кафедра микробиологии и биотехнологии растений и микроорганизмов
narine.mnatsakanyan@fdalab.am

В матрицу бытового фильтра, состоящего из пористого минерала туфа и изготовленного в соответствии с техническим регламентом (ТУ РА 23477755.1918-99), путем химического осаждения встраивали наночастицы Ag. В результате были получены нанокomпозитные фильтры, которые обладают высокой биологической активностью. Изучено их бактерицидное действие на микроорганизмы, содержащиеся в воде. Эти фильтры можно использовать для обеззараживания воды.

*Бытовой фильтр – нанокomпозит – наночастицы Ag – фильтрация воды –
антимикробная активность*

Շակրտկեն հանքային տուֆից կազմված կենցաղային գոհիչ մատրիցայի մեջ, որն արտադրվում է համաձայն ՀՀ ՏԿ 23477755.1918-99 տեխնիկական կանոնակարգի, քիմիական նստեցմամբ ներկառուցվել են Ag նանոմասնիկներ: Արդյունքում ստացվել են նանոկոմպոզիտ գոհիչներ, որոնք օժտված են բարձր կենսաբանական ակտիվությամբ: Ուսումնասիրվել է դրանց բակտերիցիդ ազդեցությունը ջրում պարունակվող միկրոօրգանիզմների վրա: Այդ գոհիչները կարելի է օգտագործել ջրերի ախտահանման համար:

*Կենցաղային գոհիչ – նանոկոմպոզիտ – Ag նանոմասնիկներ – ջրի զտում – հակամանրէային
ակտիվություն*

By chemical deposition Ag nanoparticles were inserted into the matrix of household filter, consisting of tuff porous mineral and manufactured in accordance with the technical regulations (TC RA 23477755.1918-99). As a result, a nanocomposite filters that have a high biological activity were obtained. Their bactericidal activity against microorganisms contained in the water was studied. These filters can be used for the water disinfection.

Household filter – nanocomposite – Ag nanoparticles – water filtration – antimicrobial activity

Загрязнение вод, в том числе питьевой воды, представляет серьезную экологическую проблему. Из-за загрязнения питьевой воды в первую очередь страдает здоровье человека. По оценкам ВОЗ ежегодно среди детей в возрасте до пяти лет регистрируется 2.5 млрд. случаев диареи и это заболевание становится причиной смерти 1.5 млн. детей.

88 % случаев диареи связано с непригодной для питья водой, с несоблюдением требований гигиены [1]. Проблема фильтрации и обеззараживания воды, используемой человеком, остается актуальной. Сейчас выпускается множество бытовых фильтров, отличающихся друг от друга по степени очистки, методу фильтрации и удобству применения. По методу очистки различают следующие категории фильтров: механические, ионно-обменные, системы обратного осмоса, физико-химические, электрические [2,10]. Большинство фильтров осуществляют очистку лишь определенного спектра загрязнений, поэтому для достижения более эффективных результатов используют комбинацию нескольких фильтров, различающихся способом фильтрации, или конструируют системы фильтрации, которые требуют значительных затрат при установке и последующей эксплуатации. Однако существенным недостатком большинства фильтров, осуществляющих очистку вод вышеперечисленными способами, является то, что при нерегулярной подаче воды в них самих могут накапливаться и размножаться микроорганизмы, так как в фильтрах создаются благоприятные условия для их развития, в результате чего сами фильтры становятся источником заражения воды.

Проведены исследования, направленные на усовершенствование фильтрующего картриджа, которое осуществляло бы сразу несколько методов обработки воды, в частности обеззараживание. Для этого использовался фильтрующий картридж, изготовленный из экологически чистого природного пористого минерала туфа (Ервандакертское месторождение, Армения) в соответствии с техническим регламентом [3]. Фильтр имеет упорядоченно структурированную пористость с размерами пор до 1 мкм, т.е. осуществляет механическую фильтрацию. Вместе с тем, туф является минералом, имеющим высокие сорбционные свойства, в результате чего фильтрация осуществляется также за счет сорбции вредных веществ, растворенных в воде.

Картриджи имеют гигиенический сертификат Министерства здравоохранения РА (№72 от 22.09.99 г.) и получили санитарно-эпидемиологическое заключение Российской Федерации (№77.99.10.234.Д.004597.06.04 от 03.06.2004 г.). Имеется заключение о возможности применения фильтра из природных пород в практике хозяйственно-питьевого водоснабжения для доочистки питьевой воды из артезианских скважин от повышенной мутности, цветности и железа. Однако эти фильтры не осуществляют микробиологическую очистку. Бактерицидные свойства Ag и его соединений известны с давних времен [7, 16]. Показано подавляющее действие Ag на бактерии, причем оно сильнее, чем действие других металлов [12,19]. Добавление к фильтру наночастиц Ag может привести к получению нанокомпозитного фильтра, который вместе с вышеперечисленными фильтрующими свойствами будет обладать ещё и бактерицидными свойствами.

Целью настоящей работы являлось выявление наличия антимикробной активности нанокомпозитного фильтра (сочетание туф/Ag), изучение антимикробной активности фильтра по отношению к смешанной культуре микроорганизмов, а также изучение его фильтрующего ресурса при фильтрации больших объемов сильно загрязненной воды.

Материал и методика. Фильтры и их получение. На первой стадии приготовления фильтра осуществляется дробление минерала туфа на гранулы разных размеров. Из строго определенных фракций гранул в определенном соотношении готовится смесь. На этой стадии приготовления к смеси добавляются наночастицы Ag, полученные электролитическим методом [11]. Далее этой смеси придается цилиндрическая форма, после чего она подвергается термической обработке, в процессе которого происходит скрепление гранул друг с другом, встраивание и фиксирование наночастиц Ag в структуру природного минерала (рис.1).

Размер пор по мере продвижения к центру фильтрующего элемента уменьшается. В процессе фильтрации вода снаружи направляется внутрь.

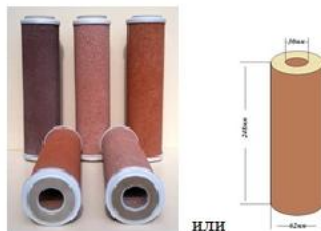


Рис. 1. Фильтр, изготовленный из туфа (справа).

Антимикробное действие нанокompозитного фильтра. Для выявления наличия бактерицидных свойств нанокompозитного фильтра был использован диск-диффузионный метод [9] в некоторой модификации. Для этого поверхность питательной среды в чашках Петри была засеяна суспензией тест-микроба *Escherichia coli* ATCC 25922 (American Type Culture Collection), которая была приготовлена из суточной культуры. Для получения газона использовали суспензию бактерий с концентрацией 10^6 КОЕ/мл. К среде добавляли такое количество суспензии клеток, которое обеспечило бы оптимальный рост тест-микроба и четкость зон угнетения его роста. Сразу же после посева на пластинку агара были положены кусочки нанокompозитного фильтра и кусочки фильтра без Ag, смоченные стерильной дистиллированной водой. Чашки инкубировали при температуре 37°C в течение 24 ч.

Изучение обеззараживающих свойств фильтра по отношению к смешанной культуре микроорганизмов. Для изучения антимикробного действия Ag по отношению к высокой концентрации смешанной культуры микроорганизмов, а также для изучения фильтрующего ресурса нанокompозитного фильтра, соорудили конструкцию (рис.2), которая позволила бы осуществить фильтрацию больших объемов воды с большой микробиологической нагрузкой.

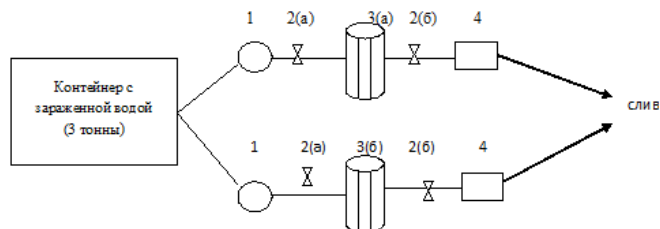


Рис. 2 Схема конструкции по фильтрации воды: 1-счётчик воды, 2-пробоотборники: 2(а)-до фильтрации, 2(б)-после фильтрации, 3- колбы с фильтрующими картриджами: 3(а)-фильтрующий картридж без Ag, 3(б)-фильтрующий картридж с Ag, 4-вакуумный насос.

Для этого контейнер вместимостью в 3 т заполняли водой, загрязненной микроорганизмами (100 г почвы). На выходе контейнера смонтировали две разобращенные трубы, на каждой из которых установили фильтрующие колбы с одинаковыми фильтрующими картриджами, одна из которых содержит наночастицы Ag, другая не содержит Ag. Перед каждым фильтром смонтировали счетчик для прослеживания профильтрованных объемов воды. До и после фильтрующей колбы установили пробоотборники.

Загрязненную воду одновременно прокачивали через оба фильтра: с Ag и без Ag. Отбирали пробы воды до и после фильтрации 100 л, 500 л и 1000 л воды.

По 1 мл с каждой пробы глубинно сеяли в питательную среду (Nutrient agar/Liofilchem). Все чашки инкубировали при температуре 37°C в течение 24-48 ч. После инкубации подсчитывали количество колонийобразующих единиц (КОЕ), вычисляли среднее значение и на основе этих данных рассчитывали пропуск-каемость и бактерицидный эффект фильтра с Ag и без Ag в процентах (табл.1).

Результаты и обсуждение. После инкубации агаровой пластины с кусочками фильтров осуществили визуальную оценку. Вокруг кусков фильтра с Ag четко виднелись 2-4-миллиметровые зоны задержки роста тест-микроба, (которая осталась неизменной даже после 7 дней инкубации), что свидетельствует о наличии бактерицидных свойств фильтра (рис.3), а куски фильтра без Ag не вызывали задержку роста тест-микроба.

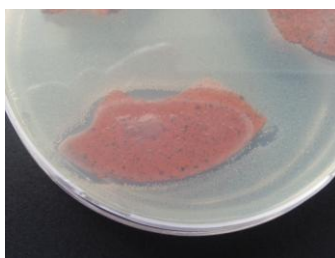


Рис. 3 Кусок нанокompозитного фильтра с Ag на газоне *E. coli* ATCC 25922 в чашке Петри с питательной средой. Вокруг и под куском нанокompозитного фильтра с Ag видна зона задержки роста тест культуры.

После фильтрации 100 л воды с микробиологической нагрузкой в среднем 3940 КОЕ/мл бактерицидный эффект фильтра без Ag составил в среднем $12,94\% \pm 0,21\%$, а с Ag составил в среднем $53,30\% \pm 4,78\%$ (рис. 4). После фильтрации 500 л воды со средней микробиологической нагрузкой 3720 КОЕ/мл бактерицидный эффект фильтра без Ag составил в среднем $9,68\% \pm 3,06\%$, а с Ag – $44,35\% \pm 4,17\%$. Наконец, после фильтрации 1000 л воды со средней микробиологической нагрузкой 4300 КОЕ/мл бактерицидный эффект фильтра без Ag составил в среднем $15,58\% \pm 2,85\%$, а с Ag – $47,91\% \pm 0,61\%$ (рис. 4). Получается, что после фильтрации 1000 л сильно загрязненной воды с микробиологической нагрузкой в среднем 3987 КОЕ/мл бактерицидный эффект фильтра без Ag составил в среднем $12,73\% \pm 2,04\%$, а бактерицидный эффект фильтра с Ag составил в среднем $48,52\% \pm 3,19\%$. Из полученных результатов видно, что бактерицидный эффект фильтра с Ag от 3,0 до 4,5 раза превышает бактерицидный эффект фильтра без Ag, что вызвано токсичным воздействием Ag на микроорганизмы. Однако при сравнении антимикробной активности обоих фильтров с Ag и без Ag видно наличие слабой антимикробной активности фильтра без Ag, что обусловлено структурой фильтра (размеры пор до 1 мкм) и свойствами минерала туфа (сорбционные свойства).

По мере увеличения объемов фильтруемой воды антимикробная активность фильтра без Ag незначительно увеличивается, что носит кратковременный характер, так как это вызвано тем, что поры фильтра в процессе фильтрации засоряются, то есть его пропускная способность уменьшается, и сравнительно крупные микроорганизмы задерживаются в порах фильтра, что в конце приведет к закупориванию фильтра и ее непригодности. В отличие от этого, антимикробная активность нанокompозитного фильтра обусловлена бактерицидными свойствами наночастиц Ag.

Таблица 1. Подсчёт колоний, выросших в питательной среде при посеве воды, до и после фильтрации разных объемов зараженной смешанной культурой воды через фильтр без Ag и содержащий Ag.

Количество профильтрованной воды, л	Количество КОЕ/мл до фильтрации	Количество КОЕ/мл после фильтрации	
		фильтр без Ag	фильтр с Ag
100	3940	3430	1840
Пропускаемость, %	100	87,05	46,70
500	3720	3360	2070
Пропускаемость, %	100	90,32	55,65
1000	4300	3630	2240
Пропускаемость %	100	84,42	52,09

На бактерицидный эффект нанокompозитного фильтра с Ag косвенным образом влияет общая и органическая загрязненность фильтруемой воды: так при большой органической загрязненности пропускающая способность фильтра уменьшается, тем самым уменьшается площадь соприкосновения воды с фильтрующим материалом, содержащим наночастицы Ag.

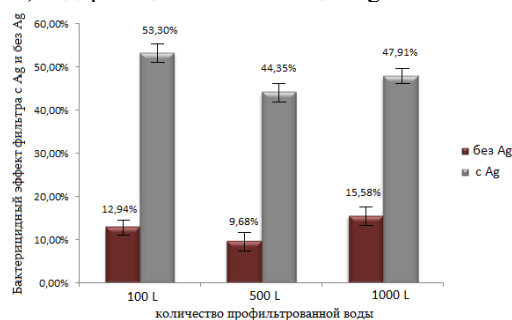


Рис. 4. Бактерицидный эффект фильтра без Ag и с Ag по отношению к смешанной культуре микроорганизмов после фильтрации 100 л, 500 л и 1000 л воды.

Было доказано, что наночастицы Ag сами по себе менее токсичны для бактерий, чем ионы, высвобождаемые при окислении наночастиц Ag [7, 20].

Позднее работами других исследователей было доказано, что при бактерицидном эффекте степень активности серебра тем больше, чем выше концентрация ионов серебра [13]. Степень антимикробной активности наночастиц Ag зависит также от их формы, размеров, разряженности [4, 8, 14, 18]. Антимикробная активность ионов Ag может быть увеличена во много раз в присутствии карбонатов, растворенных в воде [17]. Доказано также наличие бактерицидного эффекта Ag, включенного в состав различных матриц, чем расширяется спектр его применения [5, 15].

Существует множество теорий, объясняющих механизм действия Ag на микроорганизмы, согласно которым положительно заряженные ионы Ag адсорбируются клетками бактерий, имеющих отрицательный заряд, после чего проникают внутрь клетки и ингибируют ферменты дыхательной цепи, а также разобщают процессы окисления и окислительного фосфорилирования, в результате чего клетка гибнет [6, 19].

Таким образом, выявлена возможность придания антимикробной активности минералу туф, что открывает перспективы для получения материалов с антимикробными свойствами на основе других минералов и Ag, которые смогут найти практическое применение. Полученный нанокompозитный фильтр, состоящий из

пористого минерала туфа со встроенными наночастицами Ag, наряду с механическими и сорбционными, имеет также бактерицидные свойства, которые сохраняются до исчерпания его механических свойств. Антимикробная активность фильтра предотвращает также возможность развития микроорганизмов в самом фильтрующем картридже. Он может быть использован и для обеззараживания воды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глобальная ежегодная оценка состояния санитарии и водоснабжения в рамках механизма ООН по водным ресурсам. ГЛААС 2010. Всемирная организация здравоохранения, Женева, 2011.
2. *Зинна Н.* Методы фильтрации воды в системах водоподготовки. "Сантехника" №4, 2005.
3. Технические условия ТУ РА 23477755.1918-99. Фильтр бытовой для питьевой воды из природных пород.
4. *Abbaszadegan A., Ghahramani Y., Gholami A., Hemmateenejad B., Dorostkar S., Nabavizadeh M., Sharghi H.* The Effect of Charge at the Surface of Silver Nanoparticles on Antimicrobial Activity against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria: A Preliminary Study. *Journal of Nanomaterials*, Article ID720654, 8pages, 2015.
5. *Azócar I., Vargas E., Duran N., Arrieta A., González E., Pavez J., Kogand M.J., Zagal J.H., Paez M.A.* Preparation and antibacterial properties of hybrid-zirconia films with silver nanoparticles. *Materials Chemistry and Physics*, 137, p.396-403, 2012.
6. *Chen M., Yang Z., Wu H., Pan X., Xie X., Wu C.* Antimicrobial activity and the mechanism of silver nanoparticle thermosensitive gel. *Int J Nanomedicine* 6, p.2873-7, 2011.
7. *Choi O., Deng K.K., Kim N.J., Ross L.Jr., Surampalli R.Y., Hu Z.* The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. *Water Res.*, 42, 12, p.3066-74, 2008.
8. *Chun-Nam Lok, Chi-Ming Ho, Rong Chen, Qing-Yu He, Wing-Yiu Yu, Hongzhe Sun, Jen-Fu Chiu, Chi-Ming Che.* Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 12, p.527-534, 2007.
9. EUCAST European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Disk diffusion method. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Version 5.0, 2015.
10. Household water treatment and safe storage: manual for the participant. World Health Organization. Western Pacific region, 2013.
11. *Iravani S., Korbekandi H., Mirmohammadi S.V., Zolfaghari B.* Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Res Pharm Sci.* 9, 6, p.385-406, 2014.
12. *Jung W.K., Koo H.C., Kim K.W., Shin S., Kim S.H., Park Y.H.* Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 7, p.2171-2178, 2008.
13. *Kim J.S., Kuk E., Yu K.N., Kim J.H., Park S.J., et al.* Antibacterial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biol. Med.*, 3, p.95-100, 2007.
14. *Pal S., Tak Y.K., Song J.M.* Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 6, p.1712-1720, 2007.
15. *Palza H.* Antimicrobial Polymers with Metal Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, p.2099-2116, 2015.
16. *Prabhu S., Poulouse E.K.* Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2, 32, 2012.
17. *Swathy J.R., Udhaya M.S., Amrita C., Sahaja A., Pradeep T.* Antimicrobial silver: An unprecedented anion effect. *Scientific reports*, 4, p.7161, 2014.

18. *Swathy J.R., Udhaya M.S., Amrita C., Sahaja A., Pradeep T.* Antimicrobial silver: An unprecedented anion effect. *Scientific reports*, 4, p.7161, 2014.
19. *Umadevi M., Rani T., Balakrishnan T., Ramanibai R.* Antimicrobial activity of silver nanoparticles prepared under at ultrasonic field. *International journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, 4, 3, 2011.
20. *Vardanyan Z., Gevorkyan V., Ananyan M., Vardapetyan H., Trchounian A.* Effects of various heavy metal nanoparticles on *Enterococcus hirae* and *Escherichia coli* growth and proton-coupled membrane transport. *J Nanobiotechnology*, 13, 69, 2015.
21. *Xiu Z., Zhang Q., Puppala H.L., Colvin V.L., Alvarez P.J.* Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles. *Nano Lett.*, 12, p.4271-4275, 2012.

Поступила 12.01.2016