

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПО ОТНОШЕНИЮ К РАЗЛИЧНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ БИОЦИДНЫХ КАТИОННЫХ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ

¹Хту Мьят К.К., ²Герасин В.А.*

¹Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева

²Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии наук

*gerasin@ips.ac.ru

Исследовано влияние ряда катионных полиэлектролитов на биообрастание и физико-механические характеристики полимерного материала на основе стирол-акриловой водной дисперсии. Изучена стойкость покрытий к воздействию грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также дрожжевых грибов. Установлены эффективные концентрации добавок, при которых предотвращается формирование биопленок на поверхности покрытий.

Ключевые слова: полимер, краска, покрытие, биоцид, полиэлектролит

ASSESSMENT OF THE EFFICACY OF GUANIDINE-CONTAINING BIOCIDAL ADDITIVES TOWARDS DIFFERENT MICROORGANISMS

¹Htoo Myat K.K., ²Gerasin V.A.

¹D.I. Mendeleev Russian Chemical-Technological University

²A.V. Topchiev Institute of Petrochemical Synthesis RAS

Effect of a number of cationic polyelectrolytes on the biofouling and physical and mechanical properties of polymer material based on styrene-acrylic water dispersion has been studied. The antifouling properties of the material were tested against gram-positive and gram-negative bacteria as well as micromycetes. The effective concentrations of the additives have been determined for inhibiting the formation of biofilm on the polymer surface.

Keywords: polymer, paint, coating, biocide, polyelectrolyte

Среди различных функциональных добавок для полимерных материалов востребованы биоциды и фунгициды, которые необходимы для защиты материалов от биодеструкции и биообрастания [1, 2]. Одним из перспективных направлений решения этой проблемы представляется использование высокомолекулярных полиэлектролитов [3], которые оказывают комбинированное воздействие на бактериальную клетку и при этом выгодно отличаются от большинства низкомолекулярных биоцидов экологической безопасностью и нетоксичностью для человека.

Известны работы, направленные на применение полигуанидинов в лакокрасочных покрытиях. Так, в патенте [4] представлена антимикробная краска «БИОКРАПАГ», содержащая соли или основания полигексаметиленгуанидина в количестве 3...7 % мас. В патенте [5] описана лакокрасочная композиция для превентивной пролонгированной дезинфекции помещений с большим скоплением и длительным пребыванием людей. Для улучшения совместимости биоцида и пленкообразователя, полигуанидины предлагается использовать в виде гидрофобных солей жирных кислот.

В ИНХС РАН проводятся работы по синтезу различных гуанидинсодержащих соединений, в том числе представляющих интерес в качестве биоцидов [6].

В работе [7] была установлена высокая эффективность применения ряда гуанидинсодержащих поликатионов в качестве тарных и пленочных биоцидов для защиты стирол-акриловой вододисперсионной краски от поражения плесневыми грибами *Aspergillus niger*. В связи с этим представляет интерес оценка эффективности таких добавок по отношению к другим микроорганизмам – бактериям и грибам.

Цель данной работы – исследование физико-механических свойств и биоцидности полимерных материалов на основе стирол-акриловой водной дисперсии, содержащих в качестве биоцидных добавок различные азотсодержащие поликатионы.

Экспериментальная часть

В качестве пленкообразователя в работе использовалась дисперсия «Акрилан 101» (производства ООО «АКРИЛАН», г. Владимир) – водная анионная дисперсия сополимера бутилового эфира акриловой кислоты и стирола, не содержащая пластификаторов. Материал предназначен для изготовления водно-дисперсионных красок для наружного и внутреннего применения, эмалей, грунтовок, шпатлевок, пропиток, волокнисто-цементных покрытий. Паспортные характеристики дисперсии: содержание твердого вещества 50 ± 1 %, средний размер частиц 0,09 мкм, pH 7,5–9,0, плотность 1,04 г/см³, температура стеклования 20 °С.

Покрытия на основе акриловых дисперсий обладают высокой атмосферо- и водостойкостью, устойчивостью к действию УФ-излучения и пожелтению, высоким блеском. Поэтому они широко используются в рецептурах лакокрасочных материалов для наружного применения. Сополимеризация акриловой кислоты и ее производных со стиролом позволяет снизить стоимость дисперсии и регулировать жесткость и твердость материала [8]. Состав и структура сополимера влияют на термодинамическое сродство макромолекул к воде [9], например, амфифильные блоксополимеры образуют полимерные мицеллы, состоящие из «нерастворимого» ядра и лиофилизующей короны [10].

Для исследований были взяты три катионных полиэлектролита:

полидиметилдиаллиламмоний хлорид (ПДАДМАХ), синтезированный в ИНХС РАН по методике работы [6];

сополимер метакрилоилгуанидина и диметилдиаллиламмоний хлорида (МГГХ/ДАДМАХ), синтезированный в ИНХС РАН по методике работы [6];

полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГ-ГХ), произведенный компанией ООО «Альтерхим-ПРО» по ТУ 20.20.14-001-24851300-2018 – промышленный продукт, применяемый как компонент антисептических растворов [11].

Для сравнения использовали дисперсию, содержащую стандартный тарный биоцид Preventol D6 на основе изотиазолинонов и (этилендиокси)диметанола.

Водную дисперсию «Акрилан 101» смешивали с растворами полиэлектролитов (1, 3, 5 % полиэлектролита от сухого остатка дисперсии) в емкости на верхнеприводной мешалке в течение 20 минут. Максимальное содержание полиэлектролита составляло 5 %, так как введение в дисперсию полиэлектролитов в количестве 7 % мас. и более приводило к разрушению дисперсии с образованием высоковязкой массы

Вязкость дисперсий определяли в соответствии с ГОСТ 8420-2022 на вискозиметре типа ВЗ-246. Покрытия наносили на металлическую подложку (после шлифования и обезжиривания) распылением с помощью пневматического краскопульта Wester FPG-40 с диаметром сопла 1 мм. Класс покрытия определяли в соответствии с ГОСТ 35094 -2024 (I – высший, VII – низший). Твердость покрытий «по карандашу» определяли в соответствии с ГОСТ Р 54586-2011. Толщину покрытий определяли в соответствии с ГОСТ Р 51694-2000. Адгезию покрытия к металлической подложке определяли методом решетчатых надразов в соответствии с методикой ГОСТ 15140-78 (наибольшая адгезия – 0 баллов, наименьшая – 5 баллов).

Для определения механических свойств полимера с добавками образцы стирол-акриловой дисперсии (полученные смешением растворов полиэлектролитов с материалом «Акрилан 101») высушивали, измельчали и прессовали навеску полимера 0,7 г с ограничительным кольцом между листами фторопластовой пленки при температуре 100 °С и давлении 0,66 МПа. Приготовленные пленки диаметром 60 мм и толщиной 0,28–0,44 мм закачивали в холодной воде в течение 1 мин. Из пленок вырезали двусторонние лопатки с размерами рабочей части 10×3 мм, которые испытывали на разрывной машине Tіratest 2000 при скорости деформации 20 мм/мин.

Эксперименты по определению биоцидности полимеров с добавками проводили следующим образом. Из полимерных пленок вырубали кружки диаметром 10 мм, которые стерилизовали жестким ультрафиолетовым излучением в течение 1 ч.

Культуры микроорганизмов (грамотрицательные бактерии *Pseudomonas aeruginosa*, грамположительные бактерии *Staphylococcus aureus*, одноклеточные дрожжевые грибы *Candida lipolytica*) выращивались на скошенной агаризованной среде LB в течение 3 дней. Для подготовки жидкой культуры в одну пробирку с агаризованной средой добавляли 5 мл стерильной жидкой среды LB и делали смыв культуры. После этого смыв добавлялся в колбу с 50 мл стерильной среды LB. Колбы инкубировались в течение суток при 30° С на качалке (150 об/мин).

Для оценки биообрастания полимеров в пробирки добавляли по 2,5 мл жидкой среды LB и вносили образцы полимеров (два кружка на пробирку). Для каждого состава исследуемого материала готовили 4 пробирки: по одной для каждого микроорганизма и одну – без засева (холостой опыт для контроля фоновой окраски). После стерилизации в пробирки добавляли по 50 мкл суточной культуры соответствующего микроорганизма и инкубировали в течение суток при 30 °С на качалке (150 об/мин).

Количественную оценку степени биообрастания осуществляли путем окрашивания образцов (с адсорбированными на них клетками) 1%-ным раствором красителя кристаллического фиолетового (КФ). После инкубирования в течение суток образцы освобождали от жидкой культуры, промывали водой и добавляли 1 мл раствора КФ. По истечении 15 мин окрашивания раствор красителя сливали, образцы промывали водопроводной водой и переносили в пробирки с 1,5 мл 96 %-ного этанола для экстракции связанного биопленкой КФ. Экстракцию проводили в течение 40 мин.

Оптическую плотность экстрактов КФ проводили на приборе КФК-2 при длине волны 590 нм в стеклянных кюветах с длиной оптического пути 2,5 мм.

Результаты исследований и их обсуждение

Введение полиэлектролитов может влиять на толщину граничных слоёв частиц латекса, на растворимость акриловых участков макромолекул сополимера, приводить к флокуляции дисперсии или изменению её вязкости. Поэтому были проведены измерения вязкости дисперсии «Акрилан 101» с добавками полиэлектролитов варьруемой концентрации (таблица 1).

Таблица 1 – Вязкость дисперсии «Акрилан 101» с различными добавками

Полиэлектролит	Содержание полиэлектролита, % (от сухого остатка дисперсии)			
	0	1	3	5
	Вязкость по ВЗ-246, с			
ПДАДМАХ	20	21	21	21
МГГХ/ДАДМАХ	20	21	21	22
ПГМГ-ГХ	20	22	23	27

Из представленных в *таблице 1* результатов видно, что с увеличением концентрации всех исследованных полиэлектролитов до 3 % вязкость дисперсии увеличивается незначительно. При концентрации 5 % заметное влияние на вязкость дисперсии оказывает только ПГМГ-ГХ.

Введение полиэлектролитов может приводить к флокуляции суспензий, поэтому были проведены опыты по оценке седиментационной устойчивости стирол-акриловой дисперсии с исследуемыми добавками. Для этого были приготовлены дисперсии с концентрацией сухого вещества 20 % с добавками полиэлектролитов в количестве 1, 3, 5 % мас. от сухого остатка. При наблюдениях в течение 7 суток не происходило выделения водного слоя, т.е. исследованные дисперсии можно считать седиментационно устойчивыми. При этом необходимо иметь в виду, что в данном случае исследовалось влияние полиэлектролитов на дисперсию без пигментов и наполнителей, которые также могут быть подвержены флокуляции под действием поликатионов; с другой стороны, этот эффект может быть нивелирован применением добавок-стабилизаторов, добавляемых к материалу при получении водно-дисперсионной краски (часто на этапе приготовления пигментной пасты).

Результаты исследований характеристик непигментированных лакокрасочных покрытий, полученных на основе дисперсии «Акрилан 101» с тремя различными полиэлектролитами, представлены в *таблице 2*.

Таблица 2 – Характеристики покрытий на основе дисперсии «Акрилан 101»

Характеристика	Содержание полиэлектролита, % от сухого остатка			
	0	1	3	5
ПДАДМАХ				
Толщина, мкм	17–19	19–22	20–24	20–26
Твердость	НВ	НН	НН	НН
Адгезия, балл	1	1	0	1
Класс покрытия	II	II	I	III
МГГХ/ДАДМАХ				
Толщина, мкм	20–21	20–23	21–25	20–27
Твердость	НВ	НН	НН	2Н
Адгезия, балл	1	1	0	1
Класс покрытия	II	II	I	IV
ПГМГ-ГХ				
Толщина, мкм	17–19	17–21	16–21	18–25
Твердость	НВ	НН	НН	2Н
Адгезия, балл	1	1	0	2
Класс покрытия	II	III	II	IV

С увеличением концентрации всех трех полиэлектролитов увеличивается толщина лакокрасочного покрытия (наносимого пневмораспылением). Наилучшие адгезия и класс покрытия наблюдаются для образцов, содержащих 3 % мас. ПДАДМАХ и МГГХ/ДАДМАХ. При увеличении концентрации полиэлектролитов в дисперсии до 5 % мас. наблюдается ухудшение класса покрытия, что может быть связано с коалесценцией дисперсии.

Результаты определения физико-механических свойств свободных плёнок стирол-акрилового сополимера с добавками представлены в *таблице 3*.

Таблица 3 – Физико-механические свойства свободных плёнок сополимера с поликатионными добавками

Содержание полиэлектролита, %	Модуль упругости, МПа	Прочность, МПа	Разрывная деформация, %
«Акрилан 101» без добавок			
0	114±2	14±0,4	470±40
«Акрилан 101» + ПДАДМАХ			
1	72±1	10±0,3	445±25
3	72±3	10±0,9	439±20
5	75±4	10±0,4	441±25
«Акрилан 101» + МГГХ/ДАДМАХ			
1	58±7	12±0,5	460±35
3	84±12	12±0,5	407±20
5	126±5	12±2,0	386±13
«Акрилан 101» + ПГМГ-ГХ			
1	143±25	15±1,7	392±20
3	117±1	13±1,2	374±25
5	127±17	14±0,9	385±30

Как следует из данных *таблицы 3*, при введении в дисперсию всех исследованных полиэлектролитов наблюдается снижение разрывной деформации материала, наиболее значительное для образцов с полиэлектролитом ПГМГ-ГХ; с другой стороны, образцы с ПГМГ-ГХ наиболее близки к исходному материалу по значениям модуля упругости и предела прочности (при введении в дисперсию МГГХ/ДАДМАХ и ПДАДМАХ значения модуля упругости уменьшаются).

Для проведения испытаний полимерных пленок на биоцидность выбраны рациональные концентрации исследуемых полиэлектролитов (на основе данных *таблиц 1–3*), также для сравнения испытан материал со стандартным биоцидом Preventol D6. Результаты представлены в *таблице 4*.

Таблица 4 – Степень обрастания материалов, содержащих биоцидные добавки, биопленками различных микроорганизмов

Концентрация полиэлектролита	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. lyopolitica</i>	<i>S. aureus</i>
	Степень обрастания, усл. ед.		
«Акрилан 101» без добавок			
–	88	82	90
«Акрилан 101» + Preventol D6			
Стандартная дозировка	11	62	13
«Акрилан 101» + ПДАДМАХ			
1 %	10	0	6
«Акрилан 101» + МГГХ/ДАДМАХ			
3 %	0	41	26
«Акрилан 101» + ПГМГ-ГХ			
1 %	39	29	20
3 %	75	0	75
5 %	52	0	65

Из данных таблицы 4 очевидно, что стандартный биоцид Preventol D6 эффективно подавляет развитие *P. aeruginosa* и *S. aureus* на поверхности полимера, но недостаточно эффективен при ингибировании роста *C. lypholitica*. Обратная закономерность наблюдается для ПГМГ-ГХ: на поверхности образцов с ПГМГ-ГХ наиболее эффективно подавляется развитие именно дрожжевых грибов *C. Lypholitica* (по сравнению с другими микроорганизмами). Наибольшая биоцидность установлена для композиции с ПДАДМАХ: уже при достаточно низкой концентрации (1 % мас.) на поверхности данного материала подавляется рост всех трех исследованных микроорганизмов.

При проведении испытаний покрытий с аналогичными добавками на стойкость к обрастанию плесневыми грибами *Aspergillus niger* [8] наибольшая биоцидность была установлена для сополимера МГГХ/ДАДМАХ. Вероятно, наблюдаемые расхождения связаны с различиями в строении клеточной стенки микроорганизмов, т.е. при выборе биоцидных добавок для различных областей применения необходимо учитывать типичный состав микробиоты в предполагаемых условиях эксплуатации изделий.

Выводы

Получены и исследованы композиционные материалы на основе водной стирол-акриловой дисперсии «Акрилан 101», содержащие полиэлектролиты ПГМГ-ГХ, МГГХ/ДАДМАХ, ПДАДМАХ.

Исследованные полиэлектролиты в концентрациях до 5 % (по отношению к сухому остатку дисперсии) мало влияют на вязкость и седиментационную устойчивость дисперсии «Акрилан 101». Наилучшие адгезия и класс покрытия обеспечиваются при концентрации полиэлектролитов в дисперсии 1...3 % мас. При сравнении механических свойств пленок стирол-акрилового сополимера, содержащих различные полиэлектролиты, установлено: свойства образцов, содержащих ПГМГ-ГХ, наиболее близки к свойствам исходного материала.

Исследованные полиэлектролиты существенно различаются по биоцидной эффективности в отношении микроорганизмов различных таксономических категорий. Так, покрытия с ПГМГ-ГХ более устойчивы к обрастанию биопленками дрожжевых грибов *C. lypholitica*, покрытия с МГГХ/ДАДМАХ устойчивы к обрастанию биопленками грамотрицательных бактерий *P. aeruginosa*. Наибольшей биоцидностью характеризуется материал с добавкой ПДАДМАХ: уже при концентрации добавки 1 % мас. обеспечивается эффективное подавление роста всех трех исследованных микроорганизмов.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИНХС РАН.

Библиография

1. Paz-Villarraga C.A., Castro Í.B., Fillmann G. Biocides in antifouling paint formulations currently registered for use // Environmental Science and Pollution Research. 2022. V. 29. P. 30090–30101.
2. Holtz R.D., Lima B.A., Souza Filho A.G., Brocchi M., Alves O.L. Nanostructured silver vanadate as a promising antibacterial additive to water-based paints // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2012. V. 8, N 6. P. 935–940.
3. Zhurina M.V., Bogdanov K.I., Mendelev D.I., Tikhomirov V.A., Pleshko E.M., Gannesen A.V., Kurenkov V.V., Gerasin V.A., Plakunov V.K. Phylogenetic constitution and survival of microbial biofilms formed on the surface of polyethylene composites protected with Polyguanidine biocides // Coatings. 2023. V. 13, N 6. P. 1–21.
4. Патент РФ № 2131897 С1. Биоцидная краска "БИОКРАПАГ" / К.М. Ефимов. Оpubл. 20.06.1999.
5. Патент РФ № 2309172 С1. Биоцидная лакокрасочная композиция / И.И. Воинцева, К.М. Ефимов, С.В. Мартыненко, О.Н. Скороходова. Оpubл. 27.10.2007.

6. Sivov N.A., Kleshcheva N.A., Valuev I.L., Valuev L.I. Biocidal Copolymers of Methacryloylguanidine Hydrochloride with Methacrylamide and Diallyldimethylammonium Chloride // Polymer Science. Series B. 2021. V. 63. P. 531–535.
7. Хту Мьят К.К., Герасин В.А. Сравнительная оценка эффективности гуанидинсодержащих бицидных добавок для водно-дисперсионных красок // Известия Кабардино-Балкарского государственного университета. Т. 14, № 3. 2024. С. 97–103.
8. Poth U., Schwalm R., Schwartz M. Acrylic resins. Hanover: Vincentz Network, 2011. 384 p.
9. Минеева К.О., Осипова Н.И., Зайцев С.Д., Плуталова А.В., Меденцева Е.И., Серхачева Н.С., Лысенко Е.А., Черникова Е.В. Синтез амфифильных сополимеров акриловой кислоты и стирола заданной микроструктуры и их свойства // Высокомолекулярные соединения Б. 2020. Т. 62, № 6. С. 436–446.
10. Reiss G. Micellization of block copolymers // Progress in polymer science. 2003. V. 28, N 7. P. 1107–1170.
11. Воинцева И.И., Гембицкий П.А. Полигуанидины-дезинфекционные средства и полифункциональные добавки в композиционные материалы. М.: ЛКМ-пресс. 2009. 303 с.