

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **232169**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **416228**

(22) Data zgłoszenia: **22.02.2016**

(51) Int.Cl.

D06M 11/77 (2006.01)

D06M 13/144 (2006.01)

D06M 15/19 (2006.01)

D06M 15/252 (2006.01)

B01D 39/00 (2006.01)

(54) **Zestaw struktur porowatych o działaniu biobójczym do modyfikacji włókien filtracyjnych długotrwałego użycia**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

05.06.2017 BUP 12/17

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

31.05.2019 WUP 05/19

(73) Uprawniony z patentu:

**CENTRALNY INSTYTUT OCHRONY
PRACY – PAŃSTWOWY INSTYTUT
BADAWCZY, Warszawa, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**KATARZYNA MAJCHRZYCKA,
Dobra-Nowiny, PL**

BOGUMIŁ BRYCKI, Poznań, PL

MAŁGORZATA OKRASA, Zduńska Wola, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Joanna Bocheńska

PL 232169 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest zestaw struktur porowatych o działaniu biobójczym do modyfikacji włókien filtracyjnych stosowanych w sprzęcie ochrony układu oddechowego wielokrotnego użytku.

W przypadku narażenia pracowników na bioaerozole konieczne jest stosowanie sprzętu ochrony układu oddechowego, którego materiałem bazowym jest włóknina filtracyjna. Przy długotrwałym użytkowaniu sprzętu filtrującego wobec pyłów zawierających mikroorganizmy dochodzi do ich kolonizacji wewnątrz włókien (K. Majchrzycka, M. Okrasa, J. Skóra, B. Gutarowska, "Evaluation of the survivability of microorganisms deposited on the filtering respiratory protective devices under varying conditions of humidity", *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2016, 13(1), 98), co może stanowić zagrożenie dla użytkownika sprzętu. W takim przypadku istotne jest zapewnienie przez cały czas stosowania sprzętu działania biobójczego wewnątrz włókien filtracyjnych.

Potrzeba zapewnienia długotrwałego efektu biobójczego wynika z faktu, że na terenie Unii Europejskiej możliwe jest stosowanie filtrującego sprzętu wielokrotnego użycia do ochrony przed czynnikami biologicznymi. Oznacza to, że nie musi być on utylizowany po 8-godzinnym stosowaniu przez pracownika, ale może być użyty podczas pracy przed kolejne dni. Na podkreślenie zasługuje jeszcze jeden aspekt związany z ponownym użyciem sprzętu ochrony układu oddechowego. Czynności takie jak: zdejmowanie, zakładanie lub dopasowywanie sprzętu po zakończeniu pracy lub w przerwach w pracy, mogą być przyczyną przeniesienia i rozprzestrzeniania się mikroorganizmów.

Dotychczas prowadzono liczne prace nad metodami modyfikacji (funkcjonalizacji) włókien filtracyjnych z ukierunkowaniem na efekt biobójczy. Park K. i Hwang J. (Park K., Hwang J., *Filtration and Inactivation of Aerosolized Bacteriophage MS2 by a CNT Air Filter Fabricated Using Electro-aerodynamic Deposition*, *Carbon Journal*, 75, 2014, 401–410.) opisali nanoszenie powłok cienkowarstwowych na różnego rodzaju podłoża. Opracowano powłoki będące połączeniem biokompatybilnych materiałów (np. tytanu) z metalami o dużej aktywności biologicznej (np. miedź, srebro, złoto). Opracowany kompozyt zyskał skuteczność zatrzymywania cząstek o średnicy typowej dla wirusów (o wymiarach rzędu 0,01 μm). Sureshkumar M., Sisiwanto D., Chen Y., Lee C., Wang M. (Sureshkumar M., Sisiwanto D., Chen Y., Lee C., Wang M., *Antibacterial and Biocompatible Surfaces Based on Dopamine Autooxidized Silver Nanoparticles*, *Journal of Polymer Science, part B: Polymer Physics*, 51, 2013, 303–310) stosowali także nanocząstki srebra (AgNPs) do nadania właściwości biobójczych powierzchniom filtracyjnym. Opisano dwuetapowy proces aplikowania adhezyjnej powłoki na podłoża takie jak: polietylen, szkło, poli(kwas mlekowy), poli(metakrylan metylu). Wykazano, że tak przygotowane materiały posiadają działanie biobójcze, a jednocześnie nie wpływają hamująco na wzrost komórek fibroblastów (komórka w tkance łącznej wytwarzająca kolagen) L-929 myszy. Nadawanie właściwości biobójczych tekstyliom poprzez łączne oddziaływanie na te materiały nanocząstkami srebra i dwutlenkiem tytanu (TiO_2) opisali Dastjerdi R., Montazer M., Shahsavan S. (Dastjerdi R., Montazer M., Shahsavan S., *A Novel Technique for Producing Durable Multifunctional Textiles Using Nanocomposite Coating*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81, 2010, 32–41.). Zastosowanie nanocząstek nieorganicznych i ich nanokompozytów do modyfikacji materiałów włókienniczych opisali także Dastjerdi R. i Montazer M. (Dastjerdi R., Montazer M., *A Review on the Application of Inorganic Nano-structured Materials in the Modification of Textiles: Focus on Antimicrobial Properties*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79, 2010, 5–18). Omówiono środki biobójcze obejmujące: nanocząstki metaliczne (TiC) i niemetaliczne TiO , nanorurki tytanu (TNTs) nanocząstki srebra i złota, tlenku cynku oraz nanopręty miedziane, nanorurki węglowe (CNT), nanogliny i ich zmodyfikowane formy oraz nanokompozyty. Gutarowska B., Michalski A. (30. Gutarowska B., Michalski A., *Antimicrobial Activity of Filtrating Meltblown Nonwoven with the Additions of Silver Ions*; *Fibres & Textiles In Eastern Europe 2009*; Vol. 17, No 3(74); str. 23–28) wprowadzali także jony srebra do polipropylenowych włókien filtracyjnych typu mel-blown.

Inny sposób uzyskania tekstyliów o właściwościach biobójczych opisali Lin S., Wang Z., Qi J., Wu J., Tian T., Hou L., Hao L., Yang J. (Lin S., Wang Z., Qi J., Wu J., Tian T., Hou L., Hao L., Yang J., *One-pot Fabrication and Antimicrobial Properties of Novel PET Nonwoven Fabrics*, *Biomedical Materials*, 6, 2011, 1–7). Biobójczą włókninę wytworzono z poli(tereftalanu etylu) (PET). Przy immobilizacji dwóch środków antybakteryjnych tj. e-polilizyny i natamycyny zastosowano metodę klejenia. Potwierdzono właściwości biobójcze wobec *E. coli* (8099) *S. aureus* (ATCC 6538) (AE<99,99%), w porównaniu z włókniami bez środków biobójczych.

Właściwości biobójcze uzyskali także Mahltig B., Fiedler D., Fischer A., Simon P. (Mahltig B., Fiedler D., Fischer A., Simon P., *Antimicrobial Coatings on Textiles modification of Sol-Gel Layers with*

Organic and Inorganic Biocides. *Journal of Sol–Gel Science and Technology*, 55, 2010, 269–277) w wyniku pokrycia materiałów włókienniczych powłokami zol-żel zawierającymi związki aktywne biologicznie. Zol-żel został przygotowany z czystego zolu krzemionkowego i 3-glicydoxypropylotrimetoksilanu (GEO), a następnie poddany modyfikacji związkami srebra, heksadecylu trimetylo-amoniową tolueno-sulfonianu (Htat) i związkami miedzi.

Goetzendorf-Grabowska B., Królikowska H., Bąk P., Gadzinowski M., Brycki B., Szwajca A. (Goetzendorf-Grabowska B., Królikowska H., Bąk P., Gadzinowski M., Brycki B., Szwajca A., Triclosan Encapsulated In Poli(L, L-lactide) as a Carrier of Antibacterial Properties of Textile, *Fibres & Textile in Eastern Europe*, Vol. 16, No 3(68), 2008, 102–107) opisali wykorzystanie kapsuł z polimeru biodegradowalnego PLA ze środkiem biobójczym Triclosanem do modyfikacji tekstyliów wykorzystywanych do produkcji bielizny szpitalnej.

Nowatorskim kierunkiem nadawania tekstyliom właściwości biobójczych była modyfikacja ich powierzchni z wykorzystaniem plazmy niskotemperaturowej. Nowe polipropylenowe (PP) tkaniny syntezowane techniką polimeryzacji szczepionej wspomaganą plazmą opisali Wafa D., Breidt F., Gawish M., Matthews R., Donohue V., Roe M., Bourham A. (Wafa D., Breidt F., Gawish M., Matthews R., Donohue V., Roe M., Bourham A., Atmospheric Plasma-Aided Biocidal Finishes for Nonwoven Polypropylene Fabrics. II. Functionality of Synthesized Fabrics, *Journal of Applied Polymer Science*, 103, 2007, 1911–1917). Szczepienie biocydów w wyładowaniu plazmowym zapewniło właściwości biobójcze w stosunku do bakterii, pleśni, grzybów, a także odstraszające w stosunku do kleszczy i owadów. Podobne doświadczenia opisali Nithya E., Radhai R., Rajendran R., Jayakumar S., Vaideki K. (Nithya E., Radhai R., Rajendran R., Jayakumar S., Vaideki K., Enhancement of the Antimicrobial Property of Cotton Fabric Using Plasma and Enzyme Pre-treatments, *Carbohydrate Polymers*, 88, 2012, 986–991). Tkaniny bawełniane poddano działaniu plazmy, a następnie powierzchnię traktowano ekstraktem z miodli indyjskiej (*Azadirachta Indica*). Rong Yang M., Chen K.S., Tsai J.C., Tseng C.C., Lin S.F. (Rong Yang M., Chen K.S., Tsai J.C., Tseng C.C., Lin S.F., The Antibacterial Activities of Hydrophilic-modified Nonwoven PET, *Materials Science and Engineering C*, 20, 2002, 167–173) włókninę polietylenową (PET) aktywowali także argonem za pomocą techniki plazmy niskotemperaturowej. W celu nadania właściwości biobójczych zastosowano trzy biocydy: roztwór AgNO_3 , czwartorzędową winylową sól amoniową oraz chitozan.

Liczne badania dotyczyły modyfikacji włókien filtracyjnych z ukierunkowaniem na wykorzystanie w sprzęcie ochrony układu oddechowego (filtrów lub półmasek filtrujących). Woo M., Grippin A., Wu C., Baney R.H. (Woo M., Grippin A., Wu C., Baney R.H., Use of Dialdehyde Starch Treated Filters for Protection Against Airborne Viruses, *Journal of Aerosol Science*, 46, 2012, 77–82) aktywowali włókny filtracyjne dialdehydem skrobi. Zawartość 4% dialdehydu skrobi powodowała zmniejszenie przeżywalności mikroorganizmów średnio o 30%. Tiliket G., Sage D., Moules V., Rosa-Calatrava M., Lina B., Valetton J., Nguyen Q.T., Lebrun L. (Tiliket G., Sage D., Moules V., Rosa-Calatrava M., Lina B., Valetton J., Nguyen Q.T., Lebrun L., A New Material for Airborne Virus Filtration, *Chemical Engineering Journal*, 173, 2011, 341–351) opublikowali wyniki badań związane z chemiczną modyfikacją powierzchni włókien celulozowych polietyloiminą w celu uzyskania właściwości przeciwwirusowych. Heimbuch B., Wander J.D. (Heimbuch B., Wander J.D., Bioaerosol Challenges to Antimicrobial Surface Treatments: Enhanced Efficacy Against MS2 Coli Phage of Air Filter Media Coated with Polystyrene-4-Methyltrimethylammonium Triiodide, Air Force Research Laboratory, 2006) do nadawania cech biobójczości sprzętu ochrony układu oddechowego zastosowali Polistyren-4-Methyltrimethylammonium trijodek (czwartorzędową pochodną aminową polistyrenu w postaci trijodku). Uzyskano redukcję bakterii *E. coli* na powierzchni maski chirurgicznej jodowanej na poziomie 99,9945%.

Majchrzycka K., Gutarowska B., Brochocka A., Brycki B. (Majchrzycka K., Gutarowska B., Brochocka A., Brycki B., New filtering antimicrobial nonwovens with various carriers for biocides as respiratory protective materials against bioaerosol, "JOSE", 2012, 3), Brochocka A., Majchrzycka K. (Brochocka A., Majchrzycka K.; Technology for the Production of Bioactive Melt-blown Filtration Materials Applied to Respiratory Protective Devices; *Fibres & Textiles In Eastern Europe 2009*; Vol. 17, No 5(76); str. 92–98), Majchrzycka K., Brochocka A. (Majchrzycka K., Brochocka A., Modyfikacja biodegradowalnych włókien filtracyjnych środkiem biobójczym, *Przetwórstwo Tworzyw*, 3(153), 2013, 217–222) opracowali włókny melt-blown modyfikowane środkiem biobójczym osadzonym na perlicie. Cząstki modyfikatora wprowadzano w technologii melt-blown do włókien polipropylenowych i biodegradowalnych PLA. Gutarowska B., Skóra J., Nowak E., Łysiak I., Wdówka M. (Gutarowska B., Skóra J., Nowak E., Łysiak I., Wdówka M., Antimicrobial Activity of Filtration Effectiveness of Nonwovens with Sanitized for

Respiratory Protective Equipment, Fibres & Textiles In Eastern Europe, 2014, 3(105)) wykorzystali do modyfikacji włóknin filtracyjnych komercyjny środek biobójczy Sanitized, wprowadzając go na etapie wykończenia gotowej włókniny poprzez zanurzenie w kąpeli i natryskiwanie.

Znane jest z polskiego opisu patentowego nr PL 174680B1 nadawanie włóknom syntetycznym właściwości antybakteryjnych przez wstępne spęcznianie włókien benzenem lub toluenem, a po usunięciu rozpuszczalnika napawanie kąpielą modyfikującą, zawierającą biocyd szeregu nitrofuranowego, katalizator, aktywator napawania i/lub dyspergator.

Znany jest także z polskiego opisu patentowego nr PL 179483B1 sposób nadawania właściwości antybakteryjnych włóknom syntetycznym polegający na tym, że na włóknach wytwarza się centra aktywne w postaci nadtlenków i wodoronadtlenków, następnie na drodze szczepienia wprowadza się do włókien grupy kwasowe karboksylowe, po czym napawa się włókna wodnym roztworem antybiotyku.

Znane jest również z polskiego opisu patentowego nr PL 215651B1 rozwiązanie polegające na wprowadzeniu w strugę polimeru środka biobójczego i trwałego połączenia go z polimerem polipropylenu poprzez zastosowanie specjalnej konstrukcji głowicy włóknotwórczej.

Znany jest z polskiego opisu patentowego PL 211878B1 środek biobójczy do wytwarzania niebiodegradowalnych włóknin filtracyjnych oraz sposób jego wytwarzania. Składa się on z perlitu o średnicy ziaren nie większej niż 100 μm , z naniesionym na jego powierzchnię preparatem biobójczym (wodno-alkoholowy roztwór substancji czynnych). Zawartość substancji czynnych wynosiła od 2 do 8% wagowych a perlitu od 92 do 98% wagowych w masie całkowitej środka biobójczego.

Żadne ze znanych z literatury i patentów rozwiązań nie zapewniało uwalniania środka biobójczego podczas długotrwałego i wielokrotnego użytkowania włóknin filtracyjnych. Ze względu na bezpieczeństwo długotrwałego i wielokrotnego stosowania sprzętu ważne jest, aby środek biobójczy związany był w sposób trwały z włóknem, a ponadto konieczne jest zminimalizowanie jego oddziaływania w kontakcie z użytkownikiem sprzętu. Cel ten można osiągnąć stosując metodę osadzania czasowo nieaktywnego środka biobójczego na powierzchni nośnika i stopniową jego aktywację w wyniku adsorpcji pary wodnej pochodzącej z wydychanego powietrza w czasie odpowiednim do hamowania rozwoju mikroorganizmów wewnątrz włóknin filtracyjnych. Jednocześnie ważne jest, aby osadzany środek biobójczy był skuteczny tzn. posiadał niskie stężenie hamujące w stosunku do bakterii, grzybów i pleśni. Biocydy obecnie stosowane do modyfikacji włóknin filtracyjnych, m.in. związki srebra, pochodne fenolowe czy olejki aromatyczne nie spełniają tego warunku. Dlatego, założono wykorzystanie gemini surfaktantów (GS). GS (*inaczej bliźniacze, dimerowe*) zbudowane są z dwóch takich samych lub różnych jednołańcuchowych monomerów połączonych ze sobą łącznikiem występującym między grupami hydrofilowymi monomerów lub w ich bezpośrednim sąsiedztwie. W cząsteczce takiego surfaktantu znajdują się dwa łańcuchy węglowodorowe i dwie grupy hydrofilowe. Powyższe surfaktanty posiadają unikatowe właściwości fizykochemiczne oraz przeciwdrobnoustrojowe, wyrażające się m.in. w niższych wartościach CMC (ang. *Critical Micelle Concentration*) oraz niższych wartościach MIC (ang. *Minimal Inhibitory Concentration*) w porównaniu z addytywnymi wartościami odpowiednich parametrów dla konwencjonalnych surfaktantów (monomerów), z których są zbudowane. Dla dibromku heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecyloamoniowego) (12-6-12) będącego gemini surfaktantem oraz monomerycznego analogu, bromku trimetylododecyloamoniowego (DTAB), wartości CMC oraz MIC podane są w Tabeli 1.

T a b e l a 1. Wartości CMC (mM) oraz MIC ($\mu\text{M}/\text{ml}$) dla dibromku heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecyloamoniowego) (12-6-12) oraz monomerycznego analogu, bromku trimetylododecyloamoniowego (DTAB).

		12-6-12	DTAB
CMC (mM)		1.12 [1]	15.1 [2]
MIC ($\mu\text{M}/\text{ml}$)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.0036 [3]	0.252 [3]
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 85327	0.0073 [3]	0.126 [3]
	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0.0145 [3]	0.5 [3]

[1] E. Alami, G. Beinert, P. Marie, R. Zana, Alkanediyl- α,ω -bis(dimethylalkylammoniumbromine) Surfactants. 3. Behavior at the Air-Water Interface, Langmuir, 1993, 9, 1465–1467

- [2] K. Kuperkar, J. Modi, K. Patel, Surface-Active Properties and Antimicrobial Study of Conventional Cationic and Synthesized Symmetrical Gemini Surfactants, *Journal of Surfactants and Detergents*, 2012, 15, 107–115
- [3] A. Koziróg, B. Brycki, Monomeric and gemini surfactants as antimicrobial agents – influence on environmental and reference strains, *Acta Biochimica Polonica*, 2015, 62, 879–883

W literaturze nie są znane przypadki zastosowania gemini surfaktantów do modyfikacji włóknin filtracyjnych w celu nadania im właściwości biobójczych. Wykorzystanie tych związków do budowy porowatych struktur biobójczych przeznaczonych do wprowadzenia do włóknin materiałów filtracyjnych zapewni zminimalizowanie ilości środka biobójczego przy zachowaniu efektywności przeciwdrobnoustrojowej na wysokim poziomie.

Zestaw porowatych struktur o działaniu biobójczym składa się z $n \geq 2$ rodzajów struktur o zróżnicowanym czasie aktywacji, wymieszanych w równych proporcjach. Struktury składają się z nośnika, substancji czynnej oraz substancji zwiększającej hydrofilowość struktur. Każdy z n kolejnych składników zestawu charakteryzuje się coraz mniejszą zawartością substancji czynnej (od 15% do 3% wagowych) oraz coraz mniejszą zawartością substancji zwiększającej hydrofilowość struktur (od 2 do 0%).

Nośnik stanowią glinokrzemianowe nanokryształy typu rurkowego, o wielkości nie przekraczającej 100 nm. Są one odporne na temperaturę i jako układ supramolekularny łatwe do wprowadzenia do polimeru termoplastycznego, stanowiącego surowiec do produkcji włóknin filtracyjnych.

Substancją czynną jest dibromek heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowy) (12-6-12). Dibromek heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowy) (12-6-12), który należy do gemini surfaktantów charakteryzuje się co najmniej kilkukrotnie wyższą aktywnością przeciwdrobnoustrojową, w porównaniu do analogicznych, monomerycznych czwartorzędowych soli amoniowych. Bardzo dobra aktywność przeciwdrobnoustrojową dibromku heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowego) (12-6-12) umożliwia jego zastosowanie w znacznie niższych stężeniach, w porównaniu do innych dostępnych mikrobiocydów, co w istotny sposób zwiększa bezpieczeństwo jego stosowania w kontakcie z człowiekiem i środowiskiem. Związek ten jest odporny na podwyższone temperatury, co umożliwia jego wykorzystanie jako modyfikatora w przetwórstwie polimerów termoplastycznych. Poniżej opisano sposób syntezy dibromku heksametyleno-1,6-bis-*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowego (12-6-12).

Jako **substancji zwiększającej hydrofilowość** użyto alifatyczne alkohole wielowodorotlenowe, korzystnie 1,2-propanodiol lub 1,2,3-propanotriol. Substancja czynna wprowadzona do nanokryształów jest nieaktywna w stanie bezwodnym, stąd też zapoczątkowanie jej biobójczego działania zapewniono poprzez wprowadzenie do układu supramolekularnego alifatycznych alkoholi wielowodorotlenowych zapewniających zwiększenie hydrofilowości struktur. Zróżnicowanie ilości wprowadzanych alifatycznych alkoholi wielowodorotlenowych umożliwia zróżnicowanie czasu aktywacji struktur. Im większa jest ilość alifatycznych alkoholi wielowodorotlenowych w składzie danego rodzaju struktur tym szybciej dochodzi do zwilżenia ich powierzchni i aktywacji substancji czynnej.

Przygotowanie struktur rozpoczęto od dodania do *N,N*-dimetylo-*N*-dodecylaminy 18,2 g (0,09 mol) 1,6-dibromoheksanu 10,7 g (0,04 mol) w 40 ml acetonitrylu. Reakcję prowadzono pod chłodnicą zwrotną ogrzewając w temperaturze wrzenia przez 4 godziny. Po ochłodzeniu wykrystalizował biały osad, dibromek heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowy, który odsączono przemywając acetonitrylem, a następnie pozostawiono do suszenia w eksykatorze próżniowym nad P_4O_{10} . Produkt przekrystalizowano dwukrotnie z acetonitrylu.

Osadzanie dibromku heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowego) na nanokryształach glinokrzemianowych przeprowadzono w roztworze wodnym, wodno-etanolowym lub etanolowym w temperaturze 20°C w czasie od 1 godz. do 6 godz. stosując wyjściowy roztwór mikrobiocydu w roztworze o stężeniu od 4 do 10%. Osadzanie prowadzono w taki sposób aby zawartość substancji czynnej w nanokryształach glinokrzemianowych zawierała się w granicach od 15 do 3% wagowych w zależności od zakładanego czasu aktywności danego rodzaju struktur. Ilość osadzanego mikrobiocydu na nanokryształach rurkowych kontrolowano poprzez ubytek substancji czynnej w roztworze podstawowym i sprawdzano jakościowo za pomocą FTIR oraz ilościowo za pomocą analizy elementarnej suchego produktu. W widmach w podczerwieni, szczególnie istotne są pasma drgań walencyjnych, asymetrycznych i symetrycznych, grup metylowych i metylenowych w rejonie 2853–2962 cm^{-1} , których wzrastająca intensywność jest bezpośrednio związana ze wzrastającą ilością substancji czynnej w no-

śniku glinokrzemianowym. Alkohole wielowodorotlenowe wprowadzono do struktur poprzez wymieszanie suchych struktur z równoważną wagowo ilością roztworu propanolu-2 zawierającego odpowiednią ilość alkoholi wielowodorotlenowych.

Zestaw porowatych struktur biobójczych przygotowuje się poprzez wymieszanie w równych ilościach $n=(1,2,\dots, i)$ rodzajów struktur o różnym czasie aktywacji od pierwszego kontaktu z wilgocią, w taki sposób aby struktury 1-wszego rodzaju aktywowały się natychmiast po kontakcie z wilgocią, struktury 2-go rodzaju po upływie 24 h od pierwszego kontaktu z wilgocią, a struktury i-tego rodzaju po upływie i-krotności 24 godzin od pierwszego kontaktu z wilgocią.

Wprowadzając zestaw porowatych struktur biobójczych do polimerów termoplastycznych, na etapie formowania włókniny filtracyjnej uzyskuje się zawartość substancji czynnej na poziomie od 0,25 do 0,5% wagowych, co zapewnia żądany poziom aktywności przeciwdrobnoustrojowej.

Nieoczywistym był fakt, że zestaw porowatych struktur biobójczych złożony z n rodzajów struktur charakteryzujących się zróżnicowanym czasem aktywacji po wprowadzeniu do włókien filtracyjnych wywoła efekt synergizmu. Jego rezultatem jest bardziej efektywna redukcja przeżywalności mikroorganizmów we włókninie filtracyjnej w cyklu dobowym w porównaniu z aktywnością biobójczą włókien zawierających standardowe środki biobójcze nie mające zdolności czasowej aktywacji.

Przedmiot wynalazku został zilustrowany na rysunku Fig. 1, który przedstawia średnie wartości redukcji liczby mikroorganizmów w zależności od wariantu włókniny.

Przykład:

Przykład dotyczy zestawu porowatych struktur biobójczych zawierających $n=2$ składniki. Do przygotowania zestawu zastosowano struktury typu HA-4.1 zawierające 5% dibromku heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowego) (12-6-12), oraz próbki HA-2.G.2 które zawierały 10% dibromku heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowego) (12-6-12) i 2% alkoholi wielowodorotlenowych.

Do przeprowadzenia badań przeżywalności mikroorganizmów wytworzono włókniny melt-blown z dodatkiem struktur w następujących wariantach:

- 1) referencyjna włóknina melt-blown nie zawierająca struktur biobójczych – **włóknina referencyjna**,
- 2) włóknina melt-blown z 7,3% obj. zawartością struktur typu HA-4.1 – **1 wariant włókniny**,
- 3) włóknina melt-blown z 7,3% obj. zawartością struktur typu HA-2.G.2. – **2 wariant włókniny**,
- 4) włóknina melt-blown z 7,3% obj. zestawu struktur otrzymanego poprzez zmieszanie w proporcji 50/50 struktur typu HA-4.1 i HA-2.G.2 – **3 wariant włókniny**.

Do badań zastosowano gram-ujemne pałeczki *Escherichia coli* ATCC 10536. Przygotowano inokulum bakterii w 20 ml sterylnego podłoża TSB (Tryptic Soy Agar, Merck) i inkubowano w temperaturze $30\pm 2^\circ\text{C}$ przez 24 godziny. Uzyskaną zawiesinę o gęstości $1,8\times 10^{10} \pm 8,2\times 10^8$ zaszczepiono włókniny filtracyjne o powierzchni 4 cm². Na włókniny наносono 10 μl inokulum oraz 15 μl sterylnej soli fizjologicznej (0,85% NaCl), aby uzyskać masową wilgotność włókien 200%.

Próbki biobójczych włókien filtracyjnych umieszczono w sterylnych płytkach Petriego i inkubowano przez 24 godziny w komorze klimatycznej firmy Binder (temperatura $T=28\pm 2^\circ\text{C}$; wilgotność względna powietrza $RH=80\%$). Próby pobierano tuż po naniesieniu inokulum i 0,85% NaCl (w czasie 0 godzin) po czasie inkubacji (24 godziny). Do oznaczenia skuteczności przeciwdrobnoustrojowej badanych włókien filtracyjnych zastosowano metodę ilościową statyczną AATCC 100-2004 "Antimicrobial Finishes of Textile Materials".

Po inkubacji w komorze klimatycznej próbki włókien przeniesiono do plastikowych pojemników zawierających 50 ml sterylnej 0,85% soli fizjologicznej i wytrząsano przez 5 min. Następnie wykonano rozcieńczenia prób w 0,85% soli fizjologicznej (od 10^{-1} do 10^{-6} w dwóch powtórzeniach) i wysiano po 1 ml i 0,1 ml z określonych rozcieńczeń na sterylne płytki Petriego, po czym zalano je podłożem półpłynnym TSA (Tryptic Soy Agar, Merck). Płytki poddano inkubacji w temperaturze $30\pm 2^\circ\text{C}$ przez 24 godziny, a następnie zliczono wyrosłe kolonie (wynik podano w jtk/próbkę materiału). Badania wykonano w 2 niezależnych powtórzeniach.

Za pomocą testu ANOVA na poziomie istotności $\alpha=0,05$ obliczono różnice statystyczne pomiędzy liczbami bakterii wyrosłymi na płytkach po kontakcie z włókniną kontrolną i włókninami zawierającymi porowate struktury glinokrzemianowe z dibromkiem heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowego) (12-6-12) celem porównania ich skuteczności przeciwbakteryjnej.

Redukcję bakterii (R) po kontakcie z włókniną wyznaczono korzystając ze wzoru:

$$R=(N_k-N_w/N_k)\times 100\% \quad (1)$$

N_k – liczba bakterii obecna na włókninie referencyjnej w czasie $t=24$ godz. [jtk/próbkę],

N_w – liczba drobnoustrojów obecna na włókninie filtracyjnej modyfikowanej strukturami biobójczymi po 24 godz. [jtk/próbkę].

Liczba komórek bakterii bezpośrednio po naniesieniu na włókniny (czas 0 h) wynosiła od $2,1\times 10^5$ do $3,7\times 10^6$ jtk/próbkę. Największą liczbę bakterii stwierdzono na włókninie kontrolnej, nie zawierającej struktur biobójczych ($3,7\times 10^6$ jtk/próbkę), niższą dla włókien zawierających poszczególne rodzaje struktur biobójczych (od $1,2\times 10^6$ do $3,2\times 10^6$ jtk/próbkę), a najniższą dla włókien zawierających zestaw struktur (od $2,1\times 10^5$ do $2,9\times 10^5$ jtk/próbkę).

Po 24 h inkubacji odnotowano wyraźny spadek (o 2–6 rzędów w skali logarytmicznej) liczby bakterii *E. coli* na włókninach zawierających struktury biobójcze w porównaniu do próby kontrolnej (średnio od 99,65 do 99,9% – Rys. 1). Odnotowano statystycznie istotne różnice w liczbie bakterii, które przeżyły kontakt z włókninami zawierającymi zestaw porowatych struktur biobójczych ($0-1,9\times 10^2$ jtk/próbkę) w porównaniu do włókien zawierających struktury biobójcze jednego rodzaju ($0-3,2\times 10^4$ jtk/próbkę). Zastosowanie zestawu struktur o różnym czasie zadziałania spowodowało obniżenie liczby bakterii we włókninie o 1 rząd w skali logarytmicznej już w czasie $t=0$, oraz o 5–6 rzędów po 24 h inkubacji.

Potwierdzono, że przy tym samym objętościowym stężeniu biobójczych struktur w stosunku do masy polimeru termoplastycznego w procesie wytwarzania włókien melt-blown, zastosowanie jako modyfikatora zestawu struktur biobójczych o różnym czasie zadziałania powoduje znacznie silniejszy efekt redukcji liczby mikroorganizmów w czasie niż zastosowanie struktur biobójczych o jednym czasie zadziałania.

Zastrzeżenia patentowe

1. Zestaw porowatych struktur o działaniu biobójczym do modyfikacji włókien filtracyjnych długotrwałego użycia, **znamienny tym**, że składa się z $n\geq 2$ rodzajów struktur o zróżnicowanym czasie aktywacji, wymieszanych w równych proporcjach, składających się z nośnika w postaci nanokryształów glinokrzemianowych typu rurkowego, o wielkości nie przekraczającej 100 nm, na powierzchni których osadzona jest substancja czynna w postaci dibromku heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowy) (12-6-12) oraz substancji zwiększającej hydrofilowość struktur w postaci alkoholu wielowodorotlenowego, przy czym każda z n kolejnych struktur porowatych zestawu zawiera coraz mniejszą ilość osadzonego dibromku heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowego) (12-6-12) w ilości 15–3% wagowych oraz coraz mniejszą ilość alifatycznego alkoholu wielowodorotlenowego w ilości 2–0% wagowych.
2. Zestaw według zastrz. 1, **znamienny tym**, że struktury o najwyższej zawartości osadzonego dibromku heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowego) (12-6-12) w przeliczeniu na gotowe struktury zawierają ten związek w ilości 15% wagowych i ilość alifatycznego alkoholu wielowodorotlenowego wynosi 2% wagowe.
3. Zestaw według zastrz. 1 albo 2, **znamienny tym**, że struktury o najniższej zawartości osadzonego dibromku heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowego) (12-6-12) zawierają ten związek w ilości 3% wagowych i ilość alifatycznego alkoholu wielowodorotlenowego wynosi 0% wagowe.
4. Zestaw według zastrz. 1 albo 2 albo 3, **znamienny tym**, że dla jednego stosowanego pośredniego rodzaju struktur zawartość osadzonego dibromku heksametyleno-1,6-bis-(*N,N*-dimetylo-*N*-dodecylamoniowego) (12-6-12) wynosi 7,5% wagowych i ilość alifatycznego alkoholu wielowodorotlenowego wynosi 1% wagowych.
5. Zestaw według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako alifatyczny alkohol wielowodorotlenowy stosuje się 1,2-propandiol lub 1,2,3-propantriol.

Rysunek

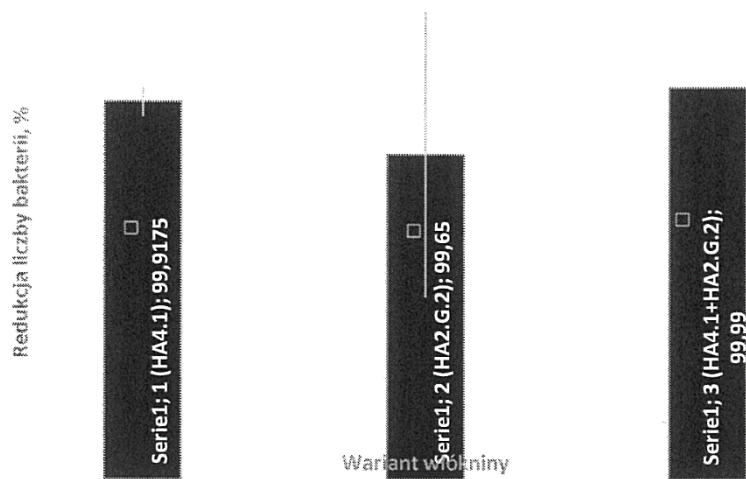


Fig. 1