

Введение Кожі специального назначения должны обладать целым комплексом свойств, определяющиеся условием их эксплуатации [1]. В этой связи, появляется необходимость разработки новых инновационных технологий, повышающих качественные характеристики специальной кожи. Особенно важны, с точки зрения потребителя, гигиенические свойства кож, из которых предполагается изготовить спецодежду или спецобувь. Организм человека в процессе жизнедеятельности непрерывно выделяет пары воды и газа. Это явление называется неощутимой перспирацией, или кожным дыханием. Пот, как и кожа человека, имеет кислую реакцию, но в процессе разложения под действием бактерий приобретает слабощелочную среду (pH 5,2-7,5) [2]. Потовыделения адсорбируются материалом обуви или одежды. Их жидкая фаза частично испаряется, а твердая, представляющая собой различные соли, витамины и другие вещества, откладывается на поверхности деталей или в их толще. Значительная часть этих веществ является питательной средой для бактерий, что вызывает микробиологическую деструкцию материалов. Старение и разрушение материалов под действием биологических агентов (бактерий) называется биоразрушением или биохимической коррозией. Наилучшие условия для бактерий создаются при температуре более 25°C и относительной влажности более 80%. Воздействие микроорганизмов, как правило, ухудшает внешний вид изделия (появляются пятна, изменяется цвет), механические свойства материалов (повышается жесткость, уменьшается показатель прочности, удлинения), а также усиленно выделяются токсичные продукты деструкции, и создается благоприятная среда для развития грибковых заболеваний [3]. Кожі специального назначения могут эксплуатироваться в контрастных климатических условиях, с резкими перепадами температур, а также долгое время находится во влажном состоянии. Влажная среда внутри одежды или обуви создает идеальные условия для развития в ней разнообразных кожных бактерий [2], что неуклонно ведет к процессу биоразрушения кожаного материала. На сегодняшний день остро стоит проблема возникновения и развития микроорганизмов в специальной одежде и обуви. Исследователи многих стран изучают и разрабатывают методы борьбы с грибковыми инфекциями, возникающими во влажном пространстве одежды или обуви, и практически все они, основываются на пропитке материала специальными противомикробными препаратами [4]. Одним из перспективных направлений в науке XXI века стало бурное развитие наночастиц металлов. Это обусловлено, прежде всего, широким спектром возможностей их практического применения, в которых используются специфические свойства как самих наночастиц, так и модифицированных ими материалов. Поэтому применение наночастиц металлов, в частности наносеребра, в кожаной промышленности, сегодня является интересной и актуальной задачей. Теоретическая часть

Натуральные кожаные материалы могут подвергаться повреждениям

микроорганизмами, к которым относятся бактерии, актиномицеты, дрожжи и микроскопические грибы. В связи с тем, что кожи специального назначения применяются для изготовления экипировки, в частности специальной обуви для контингента работающих в условиях резких климатических изменений, рациональным является исследование влияния микроскопических грибов, паразитирующих на теле человека и кожных материалов. Грибки развиваются в нейтральной или слабо-щелочной среде, а наиболее благоприятным значением pH для них является 6-6.7. Необходимо подчеркнуть, что pH кожи здорового человека составляет 5,5 (кислая среда является не благоприятной для грибов), что является одним из факторов защиты кожи человека против грибковой инфекции. Повышенное потовыделение, особенно на закрытых участках кожного покрова, испарение пота с которых затруднено, а также некоторые заболевания сопровождаются сдвигом pH кожи в щелочную среду, что делает ее более беззащитной перед грибковыми заболеваниями и способствует развитию микозов. Грибки легко переносят низкие температуры. Они остаются жизнеспособными и сохраняют способность вызывать развитие болезни даже после замораживания. Бицидная (антимикробная, противогрибковая, противогнилостная) обработка кожных материалов, разработанная более полувека назад и широко применяемая во многих странах Европы, США и Юго-Восточной Азии становится популярной и в России [5-7]. В зависимости от типа микроорганизмов, на которые воздействуют препараты, различают следующие основные виды отделки: 1. Антимикробная отделка - обработка кожных материалов антимикробными веществами с целью обеспечения контроля числа микроорганизмов на низком уровне. 2. Фунгицидная (бактерицидная) отделка обеспечивает полное уничтожение грибов и бактерий. 3. Фунгистатическая (бактериостатическая) отделка обеспечивает задержку развития грибов и бактерий. Все эти виды отделки могут быть использованы для обработки кожных материалов, однако для кож специального назначения применение бактерицидной отделки является наиболее эффективным. Авторами [8] предложен способ противогрибковой и антибактериальной обработки кожи для верха обуви, включающий проклейку полуфабриката хромового дубления антисептиком. Это природный полиминеральный продукт «Минерал», включающий термически активированный монтомириллонт. Изобретение позволяет получать кожи, устойчивые к действию бактерий и грибов, при этом продукт также выступает в роли наполнителя на стадии додубливания, повышая при этом физико-механические свойства кожи. Однако авторы не изучают при этом влияние продукта на гигиенические свойства, что очень важно для кож для верха обуви. В публикации [9] авторами рассмотрена возможность получения средства для отделки кожи на основе акриловой смолы, модифицированной наночастицами оксида кремния, в золь-гель процессах. Данное изобретение позволяет получать

наполненную кожу, с высокими физическими свойствами. Однако авторами не изучено влияние модификации данным продуктом на стойкость к биоповреждениям, что несколько ограничивает применение продукта для производства обувных кож специального назначения. В качестве бактерицидных агентов для натуральных кожевенных материалов наиболее часто применяют наночастицы серебра. Наносеребро или коллоидное серебро представляет собой жидкий раствор (суспензию) из микроскопических частиц серебра.

Бактерицидные свойства металлического серебра связаны с его медленным окислением и высвобождением ионов Ag^+ в окружающую среду. В этой связи представляется перспективным использование наносеребра в качестве биоцидных агентов в производстве кож специального назначения. Наночастицы обладают большой антибактериальной эффективностью благодаря своей развитой поверхности, обеспечивающей максимальный контакт с окружающей средой. Кроме того, они достаточно малы и способны проникать сквозь клеточные мембраны, влиять на внутриклеточные процессы изнутри [10].

Авторами работы [11] установлено, что наночастицы серебра при обработке колоний бактерий не только закреплялись на их клеточной мембране, но и были способны также проникать сквозь нее и распределяться внутри бактерии. Такой способностью обладали только индивидуальные НЧ, но не их агрегаты. Кроме того, размеры НЧ, связанных с мембраной, как правило, не превышали размеров частиц, находящихся внутри клетки. Это позволило утверждать, что только кластеры, способные к взаимодействию с клеточной оболочкой, могли внедряться в цитоплазматическое пространство. Вычисление распределения по размерам НЧ, находящихся внутри бактерий и на их мембранах, показало, что их диаметр находится в пределах $\sim 5 \pm 2$ нм. Следовательно, бактерицидный эффект НЧ серебра сильно зависит от их размера, а максимальная эффективность в борьбе против бактерий наблюдается для наночастиц диаметром менее 10 нм. Запатентован способ биоцидной обработки кожевенного полуфабриката [12], заключающийся в нанесении на материал водной композиции, содержащей 0,035-0,09 г/л катамина АБ и иодида калия, взятых в соотношении 10:1, и 0,03-0,06 г/л препарата наноразмерных частиц серебра, размером 15-20 нм. Изобретение позволяет получать кожевенные материалы с устойчивостью к биоповреждениям, однако в работе не исследованы кожи из шкур овчины, что несколько ограничивает спектр применения данного препарата. Кроме того, как уже упоминалось ранее, максимальный бактерицидный эффект достигается при применении наночастиц серебра диаметром менее 10 нм, а в изобретении используют наносеребро размером до 20 нм, что говорит о недостаточной стойкости материалов, после использования данного препарата, против биоразрушений. Наночастицы серебра являются сильнейшими биоцидными агентами, о чем свидетельствуют вышеупомянутые работы различных авторов. Серьезной технической задачей

является разработка технологии бактерицидной обработки кожевенных материалов специального назначения, с помощью применения коллоидного раствора серебра. Важно, применять наносеребро, размер частиц, которых невелик, и не превышает 9-10 нм, т.к. частицы серебра меньшего размера более эффективно проникают в клеточную мембрану микроорганизма и более равномерно в ней распределяется. Следовательно, бактерицидный эффект после обработки материалов наночастицами меньшего размера, будет максимальным. Экспериментальная часть Коллоидный раствор серебра разработан и получен на кафедре химической технологии высокомолекулярных соединений ФГБОУ ВПО «Казанский национальный исследовательский технологический университет» научными исследователями во главе с профессором, заведующим кафедрой С.Н. Степиным. Синтез наночастиц серебра проводили по методике, описанной в работе [13] и в качестве стабилизирующей добавки использовалась натриевая соль полиакриловой кислоты. Методика синтеза коллоидного раствора серебра: К $1,0 \cdot 10^{-2}$ моль нитрата серебра AgNO_3 , растворенного в 100 мл бидистиллированной воды, добавляли $1,55 \cdot 10^{-2}$ моль гидроксида натрия NaOH до полного осаждения оксида серебра Ag_2O . Полученный осадок промывали бидистиллированной водой и отфильтровывали, затем Ag_2O растворяли в 100 мл водного аммиака (0,4 масс. %, $2,3 \cdot 10^{-2}$ моль) с образованием бесцветного прозрачного раствора комплекса $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$. После этого, к полученному раствору медленно по каплям, при легком перемешивании на магнитной мешалке добавляли $1 \cdot 10^{-2}$ моль натриевой соли В-2. Полученный раствор перемешивался около 2 ч. Далее к смеси добавляли $1,11 \cdot 10^{-2}$ моль глюкозы при слабом перемешивании до полного ее растворения. Процесс восстановления серебра инициировали ультрафиолетовой (УФ) лампой ($\lambda = 365$ нм, 35 Вт) при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке раствора в колбе из кварцевого стекла на протяжении 8 ч. Реакция протекала при комнатной температуре. После 8 ч действия УФ-света получались прозрачные окрашенные дисперсии наночастицами серебра (концентрация по металлу ~ 10 мг/мл), стабилизированные олеиновой кислотой. Для проведения исследований влияния наночастиц серебра на антибактериальные свойства кожи использовали кожевенный полуфабрикат из шкур овчины и крупного рогатого скота (КРС). Образцы краста (крашеный полуфабрикат) пропитывались в водном растворе наночастиц серебра в течение 2 ч, и высушивались в сушильном шкафу при температуре 50 °C до постоянной массы. Растворы для пропитки образцов с содержанием наносеребра 0,0025% - 0,8 % готовили смешением исходного золя серебра (содержание наночастиц - 1%) с дистиллированной водой. Далее проводили исследования данных образцов кож по стандартной методике исследования чувствительности микроорганизмов (МО) к действию антибиотиков и антисептиков на твердых питательных средах (диффузионный метод бумажных дисков) в модификации. Тест-культуры: грамположительные

спорообразующие бактерии *Bacillus subtilis* и грамотрицательные неспорообразующие бактерии *Escherichia coli*. Метод основан на диффузии антисептика в толщу мясо-пептонного агара (МПА) и образовании так называемых зон ингибиции. Микробиологическое исследование проводили по 3-м методикам с использованием имитационных и реальных питательных сред.

Метод № 1: Стандартный диффузионный метод бумажных дисков с использованием имитационной питательной среды. В чашки Петри со стерильной плотной питательной средой МПА вносили 0,5 мл бактериальной суспензии и распределяли ее равномерно по поверхности среды шпателем Дригальского. Через 1 ч. на поверхность чашки в центр помещали исследуемый образец кожи. Чашки инкубировали в термостате в течение 3-х суток при температуре 28 °С. По окончании инкубации измеряли размер зоны задержки роста микроорганизмов (зоны ингибиции). Последующие 2 метода микробиологического исследования основаны на использовании реальных бактериальных питательных сред. Для этого образцы кож подвергались воздействию (имитация опытной носки изделия) в течение 24 часов (день - носка, ночь - оставались в обуви). В каждой полупаре обуви человека находились по 3 образца кожи (3 шт. - опытных образцов: пропитанных НЧ серебра, и 3 шт. - контрольных образца). Метод № 2: Исследование стерильности образцов на жидкой питательной среде. Исследование проходило следующим образом: в пробирки со стерильной жидкой питательной средой (мясопептонный бульон) с соблюдением правил асептики помещались образцы кож и закрывались ватным тампоном. Пробирки инкубировали в термостате в течение 2-х суток при температуре 28 °С. По окончании времени инкубации отмечалось наличие микробного роста по определенным признакам: равномерное помутнение среды, образование пленки на поверхности среды или осадка на дне пробирки. На жидких питательных средах выявлены следующие возможные формы роста бактерий: 1. Рост бактерий с равномерным помутнением среды, цвет которой остается неизменным или изменяется в соответствии с цветом водорастворимого пигмента, образующегося в культуре микроорганизма. Такой рост характерен для многих патогенных бактерий, относящихся к группе факультативных анаэробов. 2. Придонный рост бактерий характеризуется образованием осадка на дне пробирки с жидкой питательной средой. Осадок может быть скудным или обильным, крошковидным, гомогенным, волокнистым или в виде крупных рыхлых хлопьев, по консистенции вязким, слизистым, хрупким или пастообразным. Питательная среда над осадком может быть прозрачной или мутной. Цвет осадка и среды, находящейся над ним, определяется наличием пигмента, продуцируемого культурой микроорганизмов. Придонный рост специфичен для бактерий с анаэробным типом дыхания. 3. Пристеночный рост бактерий выражается в том, что питательная среда, находящаяся в пробирке, остается совершенно прозрачной. Бактерии растут,

образуя более или менее крупные рыхлые хлопья или, наоборот, компактные зерна, прикрепленные к внутренней поверхности стенок сосуда, с которых в зависимости от вида бактерий снимаются легко или с трудом. 4. Поверхностный рост бактерий характеризуется появлением на поверхности жидкой питательной среды пленки, внешний вид и характер которой могут быть различны. Цвет пленки, как и питательной среды, зависит от пигмента, вырабатываемого культурой. Рост бактерий в виде поверхностной пленки характерен для микроорганизмов-аэрофилов. Метод № 3: стандартный диффузионный метод бумажных дисков с использованием реальной питательной среды. Исследование проходило следующим образом: в чашки Петри со стерильной плотной питательной средой МПА размещались контрольные и опытные образцы кож, без доступа воздуха (герметизация вазелином). Чашки инкубировали в термостате в течение 1-х суток при температуре 28 °С. Используемые методы заимствованы из стандартных методов исследования стерильности биологических объектов [14]. Устойчивость кожи специального назначения к биоразрушениям оценивалась по размеру зоны задержки роста микроорганизмов на образцах кож, инкубирующихся на твердых питательных средах, так называемых, зонах ингибиции. В таблице 1 представлены результаты исследования размеров зон задержки МО от концентрации коллоидного серебра. Таблица 1 - Зависимость размера зон ингибиции на коже из шкур овчины и КРС от концентрации НЧ серебра (0,0025-0,8%)

Концентрация раствора коллоидного серебра, %	Размер зоны задержки МО, мм	Кожа из шкур овчины	Кожа из шкур КРС
Bacillus subtilis	0,0025	0,15	0,05
Escherichia coli	0,0025	0,11	0,02
Bacillus subtilis	0,005	0,19	0,09
Escherichia coli	0,005	0,14	0,04
Bacillus subtilis	0,01	0,22	0,14
Escherichia coli	0,01	0,19	0,07
Bacillus subtilis	0,02	0,29	0,19
Escherichia coli	0,02	0,24	1,1
Bacillus subtilis	0,05	0,1	0,37
Escherichia coli	0,05	0,21	0,31
Bacillus subtilis	0,1	1,14	0,2
Escherichia coli	0,1	0,37	0,2
Bacillus subtilis	0,2	0,34	0,17
Escherichia coli	0,2	0,3	0,37
Bacillus subtilis	0,3	0,21	0,34
Escherichia coli	0,3	0,17	0,5
Bacillus subtilis	0,5	0,37	0,21
Escherichia coli	0,5	0,34	0,17
Bacillus subtilis	0,8	0,8	0,37
Escherichia coli	0,8	0,21	0,34
Bacillus subtilis	0,8	0,17	0,17

Как видно из вышепредставленных результатов исследования, биоцидная обработка кож специального назначения наночастицами серебра приводит к повышению размера зоны задержки микроорганизмов. При достижении определенной концентрации размер зоны задержки микроорганизмов перестает повышаться - выходит на плато. Результаты исследования показывают, что даже минимальные концентрации наночастиц серебра достаточны для получения кожевенных материалов из шкур овчины и КРС стойких к биоразрушениям. Оптимальной для кож из шкур овчины выбрана концентрация коллоидного раствора серебра 0,1%, для кож из шкур КРС 0,2%. Далее исследовалось влияние применения биоцидной обработки кож специального назначения из шкур КРС на их стойкость к биоразрушениям на реальных питательных средах. Для этого, кожи из шкур КРС, прошедшие биоцидную обработку наночастицами серебра подвергались имитации носки. Контрольные и опытные образцы, находились в правой и левой полупарах обуви мужчины в течение 24 часов (день - носка, ночь - оставались в обуви). Исследование микробиологического состояния кож

проводили по 3 вариантам. Вариант 1 - Погружение образцов в жидкую стерильную питательную среду. Результаты исследования представлены на рисунке 1. Рис. 1 - Фотографии контрольного (справа) и наполненного наночастицами серебра (концентрация раствора наночастиц серебра 0,2%) (слева) образцов кож из шкур КРС в жидкой питательной среде мясopептонного агара. Из рисунка 1 видно, что питательная среда, в которой находился контрольный образец кожи, сильно помутнела. Образование пленки на поверхности питательной среды свидетельствует о развитии различных по отношению к кислороду групп микроорганизмов. На опытном образце отсутствуют признаки развития микроорганизмов. Питательная среда осталась прозрачной, не образовалось пленки или осадка. Вариант 2 - образцы помещались на стерильные чашки Петри и заливались мясopептонным агаром. Результаты исследования представлены на рисунке 2. Контрольный образец (рисунок 2 а) отличается от опытного (рисунок 2 б) ярко выраженными признаками роста и развития микроорганизмов, как на поверхности, так и внутри образца. На опытных образцах кож четко наблюдается зона ингибиции - рост микроорганизмов отсутствует. а б Рис. 2 - Фотографии контрольного (а) и опытного (концентрация раствора наночастиц серебра 0,2%) (б) образцов кож из шкур КРС на питательных средах. Вариант 3 - образцы размещались на поверхность твердой питательной среды без доступа воздуха (чашки Петри герметизировали вазелином). Результаты исследования представлены на рис. 3. а б Рис. 3 - Фотографии контрольного (а) и опытного (концентрация раствора наночастиц серебра 0,2%) (б) образцов кожи из шкур КРС на поверхности твердой питательной среды без доступа воздуха. Контрольный образец кожи (рисунок 3 а) отличается полным зарастанием колоний микроорганизмов. Имеется сильный запах жизнедеятельности МО. Опытный образец (рисунок 3 б) характеризуется полным отсутствием роста МО и запахов. Эффективность бактерицидного действия коллоидного серебра объясняется способностью серебра подавлять работу фермента, с помощью которого обеспечивается кислородный обмен у простейших организмов. Поэтому чужеродные простейшие микроорганизмы гибнут в присутствии ионов серебра из-за нарушения снабжения кислородом, необходимого для их жизнедеятельности. Серебро взаимодействует с пептидогликанами клеточной оболочки, блокируя их способность передавать кислород внутрь клетки бактерии, что приводит к "удушью" микроорганизма и его гибели. Как только на поверхности микробной клетки сорбируются ионы серебра, они проникают внутрь клетки и ингибируют ферменты дыхательной цепи, а также разобщает процессы окисления и окислительного фосфорилирования в микробных клетках, в результате чего клетка гибнет. Характер распределения наночастиц серебра в объеме кожи исследовали с помощью метода лазерной абляции. Результаты исследования представлены в таблице 2. Анализ полученных экспериментальных данных,

представленных в таблице 2 свидетельствует, о неоднородном распределении наночастиц серебра по толщине образца кожи. Максимальное количество наночастиц серебра наблюдается в средней части, что объясняется разностью поверхностного натяжения на границах раздела фаз т/т и т/г, что подчиняется закону диффузионного распределения частиц. Таблица 2 - Распределение наночастиц серебра в объеме кожи специального назначения из шкур овчины после биоцидной обработки

Слой	сканируемого образца	Опытный образец кожи специального назначения, наполненной наночастицами серебра ([Ag]=0,1%)
Толщина кожи, мм	Содержание наночастиц серебра, мг/кг	Поверхность 1,2
13621	Малая глубина 23240	Средняя глубина 14785
Большая глубина 412,14	Пройден насквозь 1402,7	Заключение

Исходя из вышеизложенных результатов работы, сделан вывод о возможности применения коллоидного серебра в качестве биоцидного агента в производстве кож специального назначения. Найдены оптимальные концентрации наночастиц серебра в растворе для наполнения кож из шкур овчины - 0,1%, из шкур КРС - 0,2 %.