

## СТЕРИЛИЗАЦИЯ ПОРИСТОГО СВЕРХВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ПОЛИЭТИЛЕНА В СУБКРИТИЧЕСКИХ ФРЕОНАХ

<sup>1</sup>Д. Ю. Залепугин\*, <sup>2</sup>А. В. Максимкин, <sup>2, 3</sup>М. В. Киселевский,  
<sup>1</sup>Н. А. Тилькунова, <sup>2, 3</sup>Н. Ю. Анисимова, <sup>1</sup>И. В. Чернышова,  
<sup>2</sup>Ф. С. Сенатов, <sup>1</sup>М. И. Власов

<sup>1</sup>ФГУП «Государственный завод медицинских препаратов» (ГосЗМП),  
Москва, Россия

<sup>2</sup>Национальный исследовательский технологический университет МИСиС,  
Москва, Россия

<sup>3</sup>ФГНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» министерства  
здравоохранения Российской Федерации (РОНЦ им. Н.Н. Блохина),  
Москва, Россия

\*zaledmit@gmail.com

Поступила в редакцию 14.12.2015 г.

Впервые показана возможность стерилизации пористого сверхвысокомолекулярного полиэтилена в субкритических фреонах R22 и R410a без добавления модификаторов. Максимальный стерилизующий эффект достигнут при использовании фреона R410a в статическом режиме при 50 °С и 250 атм в течение 30 мин и фреона R22 в режиме циклического изменения давления в диапазоне 100—290 атм («press-depress») при 70 °С в течение 60 мин.

Ключевые слова: субкритические фреоны, стерилизация, переменное давление, сверхвысокомолекулярный полиэтилен.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время синтетические полимеры рассматриваются в качестве основы инновационных материалов, перспективных при создании изделий для замещения дефектов костной ткани. Такие изделия (имплантаты) должны подвергаться тщательной очистке и стерилизации. Традиционные методы стерилизации (термическая обработка в автоклаве, обработка этиленоксидом, использование  $\gamma$ -излучения) не всегда применимы к изделиям из полимеров. Так, высокотемпературная обработка в автоклаве, успешно используемая для стерилизации хирургических инструментов, вызывает плавление и деструкцию большинства полимеров. Стерилизация  $\gamma$ -излучением, в целом имеющая высокую эффективность, инициирует окисление полимеров медицинского назначения кислородом воздуха, что негативно влияет на их эксплуатационные характеристики и сроки службы. Для предотвращения окислительных процессов в структуре полимера, например, сверхвысокомолекулярного полиэтилена (СВМПЭ), используют антиоксиданты: витамин Е, гиалуроновую кислоту [1, 2], а также его армирование углеродными нанотрубками, служащими «ловушками» свободных радикалов [3].

В последнее время активно ведется поиск новых эффективных методов стерилизации полимерных материалов для медицины, лишенных вышеперечисленных недостатков [4]. Одним из перспективных методов стерилизации является обработка материалов и изделий в суб- и сверхкритических средах [5]. Публикации о том, что сверхкритический (СК) диоксид углерода является высокоэффективной стерилизующей средой, появились в научной литературе около 20 лет назад [6]. Несомненные преимущества данного метода (экологическая безопасность, мягкие условия обработки и т. д.) обусловили широкое распространение его при решении проблем, связанных со стерилизацией самых различных систем, в том числе полимеров [7, 8]. Установлено, что в среде СК-СО<sub>2</sub> происходит полное уничтожение не только бактерий, но и вирусов [9]. Обработка СК-СО<sub>2</sub> материалов или изделий из полилактида при 150 атм и 37 °С в течение 15 мин приводит к стерилизации [10]. В ряде случаев эффективность стерилизации повышается при добавлении к СК-СО<sub>2</sub> следовых количеств перекиси водорода [11, 12]. Также в ряде случаев отмечено, что эффективность процесса стерилизации в СК-СО<sub>2</sub> повышается при использовании режима, предполагающего чередование циклов повышения-понижения давления («press-depress») [13, 14].

СВМПЭ — высокопрочный, устойчивый к коррозии полимер — широко используется в регенеративной медицине и является основой для создания новых композитных материалов медицинского назначения [15]. В работе [16] показано, что СК-СО<sub>2</sub> является эффективной стерилизующей средой для СВМПЭ: полное уничтожение любых микроорганизмов, включая грибы и споры, достигалось при 37 °С и 170 атм в течение 2 ч при добавлении в среду перекиси водорода. Важно отметить, что процесс стерилизации не оказывал влияния на физические и химические свойства СВМПЭ.

В литературе отсутствуют сведения о стерилизации фреонами в суб- и сверхкритическом состоянии. Известно, что фреоны используются в качестве компонента стандартных стерилизующих смесей на основе окиси этилена в соотношении окись этилена/фреон (ЭО/Ф) 12/88 с целью придания смеси пожаро- и взрывобезопасных свойств [17]. Однако при сравнении стерилизующего эффекта данной смеси и 100 %-ной окиси этилена исследователи не привели убедительных объяснений того факта, что смесь ЭО/Ф 12/88 оказалась более эффективной [18]. В этой связи представляется целесообразным исследовать стерилизующие свойства фреонов в субкритических условиях, тем более что их физические свойства, критические параметры и тот факт, что многие из них являются газами при нормальных условиях, открывают перспективу их использования для стерилизации пористых полимерных материалов медицинского назначения.

Целью настоящей работы является исследование возможности стерилизации пористых образцов СВМПЭ фреонами R22 и R410a в субкритическом состоянии.

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Для проведения эксперимента были выбраны фреон R22 (дифторхлорметан) и фреон R410a (смесь фреонов R32/R125, дифторметан/пентафторэтан, массовое соотношение компонентов 1:1), производство «РББ Трейд», г. Москва. Фреон R22 ( $t_{кип} = -40,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $t_{крит} = 96,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $P_{крит} = 50,0\text{ атм}$ ) — вещество с низкой опасностью для озонового слоя: потенциал разрушения озонового слоя (ODP) составляет

0,05 (потенциал разрушения озонового слоя для трихлорметана ODP = 1). Фреон R410a ( $t_{\text{кип}} = -51,5^\circ\text{C}$ ;  $t_{\text{крит}} = 72,0^\circ\text{C}$ ;  $P_{\text{крит}} = 49,7$  атм) безопасен для озонового слоя (ODP = 0) [19].

### Стерилизация экспериментальных образцов СВМПЭ после обработки в среде субкритических фреонов

Для исследования возможности стерилизации экспериментальных образцов на основе пористого СВМПЭ был выбран метод обработки в среде субкритических фреонов. Процесс стерилизации осуществлялся на установке, принципиальная схема которой представлена на рис. 1.

Образцы СВМПЭ для стерилизации представляли собой цилиндры диаметром 10 мм и высотой 2,5–3,0 мм, пористость 79 %. Процесс изготовления образцов подробно описан в [20, 21]. Внешний вид образцов представлен на рис. 2.

До начала эксперимента образцы (по 4 штуки в каждом опыте) помещали в стерилизатор 4. Эксперимент осуществляли в нескольких режимах. В условиях статического режима образец выдерживали в стерилизаторе при заданных значениях давления и температуры. Фреон из баллона 1 насосом высокого давления 2 подавался в стерилизатор. При этом вентиль 3 открыт, вентиль 7 закрыт. Давление контролировалось манометром 6, температура опыта задавалась блоком управления термостатом 5. После окончания процесса стерилизации открывался вентиль 7 (его температура поддерживается равной  $70^\circ\text{C}$  для предотвращения конденсации), поток фреона в виде газа очищался в сепараторе 8 и на фильтре 9 и сбрасывался в вытяжную вентиляцию.

Режим «press-depress» представляет собой чередование циклов быстрого нагнетания давления до заданной величины, выдерживания при данном давлении (5 мин) с последующим резким (в течение 3 мин) сбросом давления от 290 до 100 атм. При повторном цикле повышение давления до заданного осуществляется в течение 2 мин, как показано на графике на рис. 3. За время эксперимента (60 мин) осуществили 6 циклов нагнетания и сброса давления.

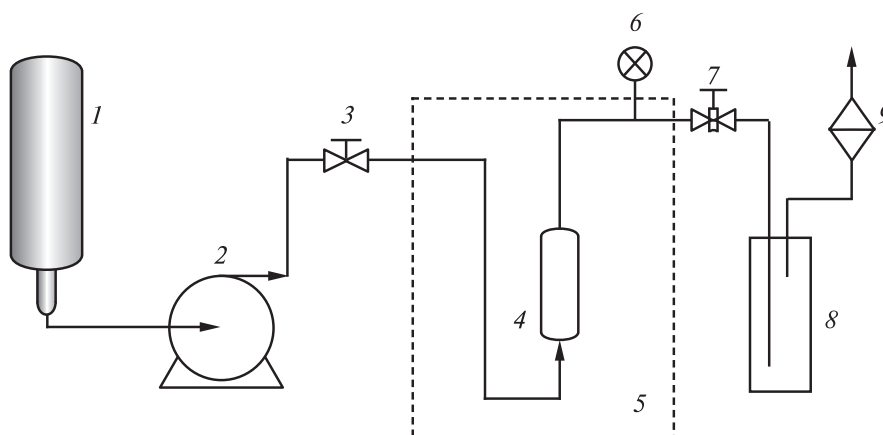


Рис. 1. Принципиальная схема установки для стерилизации образцов СВМПЭ:

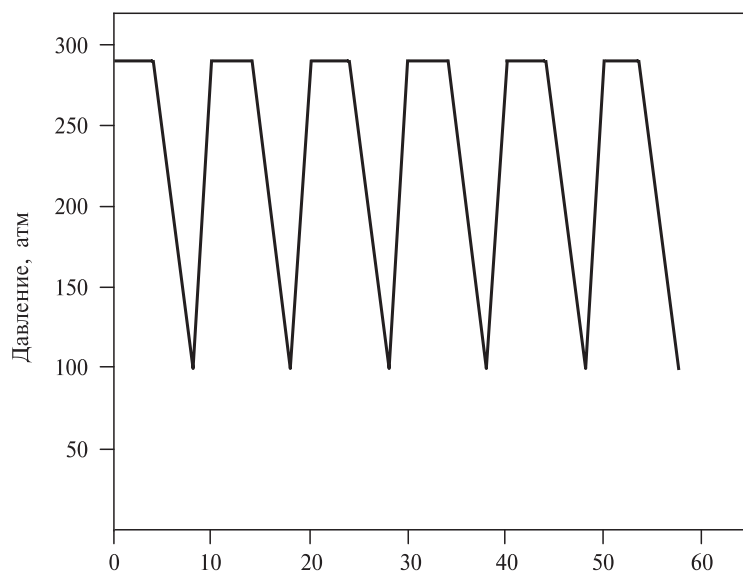
1 — баллон с фреоном; 2 — насос высокого давления с охлаждением головок; 3 — вентиль высокого давления; 4 — стерилизатор; 5 — термостат; 6 — манометр; 7 — обогреваемый вентиль; 8 — сепаратор; 9 — фильтр



**Рис. 2.** Образцы СВМПЭ до стерилизации

Условия проведения экспериментов по стерилизации образцов СВМПЭ фреонами R22 и R410a и характеристики режимов приведены в таблице 1.

Все эксперименты проводили в условиях, исключающих повторную контаминацию обработанных образцов бактериальными и грибковыми культурами. После окончания эксперимента образцы выдерживали при комнатной температуре 24 ч до полного удаления фреона (определялось гравиметрически), упаковывали в стерильные контейнеры и передавали на микробиологические исследования.



**Рис. 3.** Изменение давления в эксперименте в режиме «press-depress»

Таблица 1

Условия проведения экспериментов по стерилизации образцов СВМПЭ  
фреонами R22 и R410a

Обозначение режима стерилизации	Условия стерилизации			Характеристика режима
	Давление, атм	Температура, °С	Время, мин	
	Фреон R22			
А	80	35	10	Статический
Б	90	40	15	Статический
В	100	50	20	Статический
Г	290	70	60	«Press-depress»
	Фреон R410a			
Д	250	50	30	Статический
Е	80	35	10	Статический
Ж	90	35	15	Статический
З	120	35	15	Статический

**Исследование стерильности экспериментальных образцов СВМПЭ после обработки в среде субкритических фреонов**

Контейнеры с исследуемыми образцами вносили в подготовленный к работе бокс, дезинфицировали снаружи и приступали к исследованию. Для доказательства отсутствия контаминации образцов микроорганизмами разных типов использовали различные по составу и назначению питательные среды: тиогликолевую бульонную среду (для обнаружения микроаэрофильной бактериальной и грибковой микрофлоры) и бульон Сабуро, содержащий ингибитор роста посторонней микрофлоры — теллурид калия или левомецетин (для обнаружения сапрофитной грибковой микрофлоры); все среды производства «Pronadisa», Conda, Испания. Среды разливали по 4 мл в стерильные пробирки для центрифугирования. В асептических условиях опытные образцы извлекали из контейнера и производили прямой посев в питательные среды путем их полного погружения в толщу среды (по 2 образца на одну пробирку). Из каждого контейнера с образцами производили посев не менее чем в 2 пробирки с одним типом среды. В качестве контроля использовали пробирки, содержащие соответствующую среду без образца. Посевы в тиогликолевой среде культивировали в течение 14 суток в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 32 °С, посевы в бульоне Сабуро — при температуре 20–22 °С. По истечении указанного срока производили учет результатов, оценивая в проходящем свете и на черном фоне степень прозрачности среды, наличие осадка и роста взвешенных в среде колоний микроорганизмов. Результаты стерилизующего воздействия различных режимов обработки образцов СВМПЭ субкритическими фреонами приведены в таблице 2.

Анализ полученных результатов посевов экспериментальных образцов СВМПЭ на питательные среды показал, что отсутствие признаков роста микрофлоры на-

Таблица 2

**Оценка стерилизующего воздействия различных режимов обработки образцов СВМПЭ субкритическими фреонами**

Режим обработки	Наличие признаков контаминации образцов микрофлорой		Оценка стерилизующего эффекта
	Тиогликолевая среда	Среда Сабуро	
А	есть	есть	нет
Б	есть	нет	нет
В	есть	нет	нет
Г	нет	нет	стерилизация
Д	нет	нет	стерилизация
Е	нет	есть	нет
Ж	есть	есть	нет
З	есть	нет	нет
Контроль среды	нет	нет	—

блюдали только после их обработки в режимах «Г» и «Д». Контроль среды не показал признаков ее контаминации микрофлорой. Полученные результаты анализа посевов образцов СВМПЭ с высокой пористостью, демонстрирующие отсутствие признаков колониеобразования как бактерий, так и грибов в специализированной питательной среде, свидетельствуют об отсутствии в испытуемых образцах микрофлоры после стерилизующей обработки.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования влияния различных режимов обработки пористых образцов сверхвысокомолекулярного полиэтилена в субкритических фреонах впервые получены предварительные данные о возможности использования фреонов R22 и R410a для стерилизации высокопористых полимерных материалов. Установлено, что фреон R410a эффективно стерилизует образцы сверхвысокомолекулярного полиэтилена в статическом режиме при температуре 50 °С и давлении 250 атм в течение 30 мин. Режимы, при которых температура не превышала 35 °С, а давление было в пределах 80—120 атм, не обеспечивали эффективной стерилизации. При обработке образцов сверхвысокомолекулярного полиэтилена фреоном R22 в статическом режиме при 35—50 °С и давлении 80—100 атм стерилизации не происходило. Стерилизующего эффекта удалось добиться при обработке образца в течение 60 мин при температуре 70 °С в режиме переменного давления («press-depress») в диапазоне 100—290 атм. Следует особо отметить, что в данном случае стерилизующий эффект достигался без добавления модификаторов (перекись водорода, перкислоты, этанол и т. д.), обычно обеспечивающих эффективную стерилизацию при обработке сверхкритическим CO<sub>2</sub>. Весьма важно, что фреоны R22 и R410a являются газами при нормальных условиях, вследствие чего с течением времени полностью удаляются из обрабатываемых полимеров. Это позво-



ляет рассматривать разработанный метод стерилизации фреонами как экологически безопасный и исключающий наличие в обрабатываемых материалах остаточных количеств токсичных химических реагентов. Особенно важно подчеркнуть, что стерилизация фреонами может быть использована на практике в тех случаях, когда при стерилизации диоксидом углерода при взаимодействии его с водой может образоваться угольная кислота, что нежелательно для стерилизуемого образца.

Работа выполнена в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014—2020 годы» при финансовой поддержке государства в лице Минобрнауки России, Соглашение № 14.578.21.0055 от 19 сентября 2014 г. Уникальный идентификатор прикладных научных исследований RFMEFI57814X0055.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Qu S., Liu A., Liu X., Bai Y., Weng J.* Applied Surface Science. 2012. Vol. 262. P. 168.
2. *Fernandez-Ronco M.P., Kluge J., Krieg J., Rodriguez-Rojo S., Andreatta B., Luginbuehl R., Mazzotti M., Sague J. J.* Supercrit. Fluids. 2014. Vol. 95. P. 204.
3. *Rama-Srekanth P.S., Kanagarai S. J.* of Mechanical Behavior of Biomedical Materials. 2013. Vol. 21. P. 57.
4. *Simmons A.* Woodhead Publishing Series in Biomaterials. 2012. P. 310.
5. *Jimenez A., Thompson G.L., Matthews M.A., Davis T.A., Crocker K., Lyons J.S., Trapotsis A.* J. Supercrit. Fluids. 2007. Vol. 42. Is. 3. P. 366.
6. *Fages J., Marty A., Delga C., Condoret J.S., Combes D., Frayssinet P.* Biomaterials. 1994. Vol. 15. No. 9. P. 650.
7. *Zhang J., Davis T.A., Matthews M.A., Drews M.J., LaBerge M., An Y.H. J.* Supercrit. Fluids. 2006. Vol. 38. No. 3. P. 354.
8. *White A., Burns D., Christensen T.W. J.* Biotechnology. 2006. Vol. 123. No. 4. P. 504.
9. *Perrut M. J.* Supercrit. Fluids. 2012. Vol. 66. P. 359.
10. *Lanzalaco S., Campora S., Pavia F.C., Di Leonardo E.R., Ghersi G., Scialdone O., et al.* Sterilization of three-dimensional tissue engineering scaffolds by supercritical carbon dioxide. In 2nd international conference on bioinspired and biobased chemistry and materials. Nice, France, 15—17 October 2014.
11. *Jimenez A., Zhang J., Matthews M.A.* Biotechnol. Bioeng. 2008. Vol. 101. No. 6. P. 1344.
12. *Meyer M., Prade I., Leppchen-Fröhlich R., Felix A., Herdegen V., Haseneder R., Repke J.-U. J.* Supercrit. Fluids. 2015. Vol. 102. P. 32.
13. US Patent 8007718 B1, 2011.
14. *Silva J.M., Rigo A.A., Dalmolin I.A., Debien I., Cansian R.L., Oliveira J.V., Mazutti M.A.* Food Control. 2013. Vol. 29. No. 1. P. 76.
15. *Senatov F.S., Kopylov A.N., Anisimova N.Yu., Kiselevsky M.V., Maksimkin A.V.* Materials Science and Engineering C. 2015. Vol. 48. P. 566.
16. *Ellis J.L., Titone J.C., Tomasko D.L., Annabi N., Dehyghani F. J.* Supercrit. Fluids. 2010. Vol. 52. P. 235.
17. *Alfa M.J., DeGagne P., Olson N., Puchalski T.* Infect Control Hosp Epidemiol. 1996. Vol. 17. No. 2. P. 92.
18. *Alfa M.J.* Canada Communicable Disease Report. 1995. Vol. 21. No. 9. F-3.
19. *Камачев В.А., Шадрин А.Ю., Мурзин А.А., Шафиков Д.Н.* СКФ-ТП. 2007. Т. 2. № 3. С. 48.
20. *Максимкин А.В., Калошкин С.Д., Чердынцев В.В., Чуков Д.И., Степашкин А.А.* Медицинская техника. 2013. Т. 278. № 2. С. 16.
21. *Залепугин Д.Ю., Максимкин А.В., Тилькунова Н.А., Чернышова И.В., Сенатов Ф.С., Власов М.И.* СКФ-ТП. 2015. Т. 10. № 1. С. 70.

**STERILIZATION OF ULTRA HIGH DENSITY POLYETHYLENE  
IN SUBCRITICAL MEDIA**

**<sup>1</sup>D.Yu. Zalepugin, <sup>2</sup>A.V. Maksimkin, <sup>2,3</sup>M.V. Kiselevsky, <sup>1</sup>N.A. Tilkunova,  
<sup>2,3</sup>N.Yu. Anisimova, <sup>1</sup>I.V. Chernyshova, <sup>2</sup>F.S. Senatov, <sup>1</sup>M.I. Vlasov**

*<sup>1</sup>Federal State Unitary Enterprise «State Plant of Medicinal Drugs», Moscow, Russia*

*<sup>2</sup>National University of Science and Technology «MISIS», Moscow, Russia*

*<sup>3</sup>Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation,  
Moscow, Russia*

For the first time the ability of ultra high density polyethylene (UHDPE) sterilization with subcritical freons R22 and R410a without any modifiers is demonstrated. The maximum sterilization effect is achieved when freon R410a is used in a static regime at 50 °C and 250 bar during 30 min and with freon R22 during 60 min at 70 °C at a cyclic pressure variation between 100 and 290 bar («press-depress» mode).

**Key words:** subcritical freons, sterilization, «press-depress» regime, ultra high density polyethylene.

---

---