

## Метод фотодинамической инактивации вирусов в воздушной среде на основе применения микропористого медного фотокаталитического элемента

© И.М. Белоусова,<sup>1</sup> В.М. Киселев,<sup>2</sup> И.В. Багров,<sup>2</sup> Т.Д. Муравьева,<sup>2</sup> А.М. Стародубцев,<sup>2</sup> Т.К. Крисько,<sup>1</sup> О.С. Житенев,<sup>1</sup> В.В. Зарубаев,<sup>3</sup> А.А. Штро<sup>4</sup>

<sup>1</sup> АО „Государственный оптический институт им. С.И. Вавилова“,  
199034 Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> АО НПО „Государственный оптический институт им. С.И. Вавилова“,  
192171 Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера,  
197101 Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Научно-исследовательский институт гриппа им. А.А. Смородинцева,  
197022 Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: belousova.i.m@gmail.com

Поступило в Редакцию 29 декабря 2021 г.

В окончательной редакции 28 февраля 2022 г.

Принято к публикации 3 марта 2022 г.

Методом обеспечения биобезопасности, которому уделено основное внимание в настоящей работе, является фотодинамическая инактивация вирусов на микропористом фотокаталитическом элементе из меди или медного сплава. На основе данного метода были получены положительные результаты вирусологических исследований (на примере вируса гриппа) и разработана аппаратура для решения стратегической задачи обеззараживания и стерилизации воздуха от вирусов (гриппа, COVID-19 и др.) в замкнутых помещениях, включая помещения медицинского назначения.

**Ключевые слова:** стерилизация воздуха, медь, микропористая мембрана, вирус гриппа, синглетный кислород.

DOI: 10.21883/JTF.2022.07.52666.330-21

### Введение

Актуальной проблемой современности является биобезопасность человечества, включающая в себя как безопасность среды обитания, прежде всего воздуха, воды и окружающих нас предметов, так и безопасность средств лечения на основе биологических жидкостей, например, донорской крови, физиологического раствора.

Респираторные заболевания являются острой медико-социальной проблемой, приводя к ежегодным эпидемиям, вовлекающим большую часть человеческой популяции. Наиболее распространенной инфекцией данной группы является грипп, которым ежегодно переболевают до 15% населения Земли, причем для нескольких сотен тысяч человек это заболевание заканчивается летальным исходом [1]. Наиболее значимыми по числу человеческих жертв среди респираторных инфекций за последние сто лет явились коронавирусная инфекция COVID-19, гонконгский грипп, от которого за 1968–1970 гг. умерло от одного до четырех миллионов человек [2] и испанский грипп, унесший жизни приблизительно 50 млн человек за 1918–1920 гг. [3].

Высокая скорость накопления мутаций дает вирусу возможность ускользать от иммунной системы хозяина, что приводит к необходимости изменять состав вак-

цин, предназначенных для защиты населения в текущий эпидемический сезон, например, для вируса гриппа это необходимо делать ежегодно [4].

Одним из важных способов профилактики респираторных инфекций являются мероприятия по дезинфекции воздуха, циркулирующего в помещении, в котором могут содержаться вирусные частицы.

В течение длительного времени для обеззараживания и дезинфекции воды и поверхностей применялись в основном окислительные технологии с применением хлора и других химических дезинфектантов. Однако применение химических реагентов в целях обеззараживания воздуха приводит к неоправданному росту химической нагрузки на человеческий организм, ведь в отличие от промышленных химических загрязнений дезинфектанты вносятся непосредственно в среду обитания человека. В связи с этим на первое место в сфере обеззараживания воздуха выходят более щадящие для организма физические методы дезинфекции [5]. В настоящее время к таким методам относятся: фильтрация, озонирование, воздействие ультрафиолетовым излучением, фотокатализ, электрический разряд, плазма.

Указанные выше методы и способы очистки и обеззараживания воздуха, как правило, запатентованные, реализованы в различных приборах и устройствах, од-

нако каждый из этих методов имеет свои определенные недостатки.

Наиболее очевидным устройством является прибор фильтрации воздуха с использованием НЕРА-фильтров [6], которые образованы системой стеклопластиковых микроволокон с диаметром от 0.5 до 2  $\mu\text{m}$ . Эти фильтры способны задерживать патогены и частицы с диаметром от 0.003  $\mu\text{m}$  с эффективностью 99.5%. Недостатком этих устройств является накопление жизнеспособных осажденных на фильтрах вирусов и их возможный „залповый выброс“ при смене фильтра, приводящий к заражению персонала и помещения.

Широко применяется для обеззараживания воздуха в помещениях ультрафиолетовое излучение бактерицидных ртутных ламп с диапазоном длин волн 205–315 nm (наиболее эффективно излучение с  $\lambda = 254$  nm), как, например, в устройстве, описанном в патенте [7]. Однако наличие ультрафиолетового излучения приводит к выработке вредных веществ, таких как озон и закись азота, оказывающих отравляющее, поражающее действие на человека [8]. Такие устройства целесообразно эксплуатировать в отсутствие людей в хорошо проветриваемых помещениях.

Обеззараживание воздуха с помощью озонирующих устройств [9] обладает высокой окислительной способностью и эффективно разрушает патогенную микрофлору. Вместе с тем концентрации озона, требуемые для эффективного обеззараживания и создаваемые устройством, превосходят нормативы предельно-допустимых концентраций (ПДК) для человека (разовую — 0.16  $\text{mg}/\text{m}^3$  и среднесуточную — 0.03  $\text{mg}/\text{m}^3$ ) [10], поэтому такие устройства могут использоваться только при отсутствии людей.

Заслуживает внимания также способ и устройства, основанные на инактивации патогенов с помощью электрического коронного разряда [11]. В зоне инактивации создаются коронные разряды с разной полярностью, и производится воздействие на микроорганизмы резко изменяющимися по величине напряженности и градиенту постоянными электрическими полями, а также ионами противоположных знаков, в результате чего происходит полное разрушение микроорганизмов, либо их электропорация (образование пор в мембране). Недостатком этого способа является необходимость создания высоких напряженностей электрического поля для уничтожения микроорганизмов или их электропорации, превосходящих напряженность электрического пробоя в воздухе [5]. Кроме того, наличие высоких напряжений требует эксплуатации прибора высококвалифицированным персоналом и небезопасно в бытовых условиях.

Наиболее интересен, на наш взгляд, фотокаталитический способ обеззараживания воздуха и устройства на его основе. В них под воздействием поглощенного излучения в полупроводнике-фотокатализаторе образуется электронно-дырочная пара. Электрон и дырка на поверхности полупроводника могут вступать в реакцию с адсорбированными на поверхности же молекулами

кислорода и другими примесями, образуя активные формы окислителей, включая гидроксильный радикал  $\text{OH}^\bullet$ , супероксид анион-радикал кислорода  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , а также синглетный кислород, получаемый в результате взаимодействия  $\text{O}_2^{\bullet-}$  с дыркой ( $h^+$ ) [12,13].

Эти активные формы окислителей эффективно воздействуют на патогены. Так, противовоспалительный эффект их воздействия, исследованный в рамках антибактериальной и антимикотической фотодинамической терапии, был сравним с лечебным эффектом при применении традиционных антибактериальных и противогрибковых методов [14], а анализ противовирусных исследований показал их способность инактивировать как оболочечные, так и необолочечные ДНК- и РНК-вирусы, предполагая, что потенциально может быть инактивирован также вирус SARS-CoV-2 [15].

В настоящее время фотокатализатор для обеззараживания воздуха реализуется, как правило, на основе двуокиси титана. Так, например, в устройстве Тиокрафт [16] двуокись титана нанесена непосредственно на поверхность ламп. Освещение фотокаталитического элемента производится ультрафиолетовыми источниками излучения ( $\lambda = 320\text{--}405$  nm), так как край запрещенной зоны полупроводника  $\text{TiO}_2$  соответствует  $\lambda = 388$  nm.

Фотокаталитические устройства на основе двуокиси титана активно совершенствуются [17], так как привлекательны тем, что активные окислители, образующиеся при фотокатализе, способны к уничтожению любых типов патогенных микроорганизмов.

Серьезным недостатком фотокаталитических устройств с диоксидом титана является применение ультрафиолетового излучения для активации фотокатализатора. Даже при использовании безоновых бактерицидных ламп выработка озона все же имеет место, хотя и в меньшей концентрации. Данный недостаток ограничивает применение таких окислительных устройств в помещениях с людьми. Использование излучения видимой области спектра могло бы устранить эту проблему, однако известно, что при этом резко снижается эффективность фотокаталитического элемента на основе диоксида титана. Дополнительным недостатком этого устройства является также, недостаточная прочность покрытия из диоксида титана, что в ряде случаев приводит к осыпанию наночастиц диоксида титана с носителя и поступлению их в воздушную среду. При этом следует учесть, что появляется все больше свидетельств того, что воздействие наночастиц диоксида титана (НЧ  $\text{TiO}_2$ ) может быть вредным [18] особенно при продолжительном воздействии. Наночастицы  $\text{TiO}_2$  вызывают дисфункцию эндотелиальных клеток и повреждение глиальных клеток. Вдыхаемые частицы могут вызывать системные эффекты, а также перемещаться из легких и проникать в основные биологические структуры, что, в свою очередь, может нарушать их нормальную функцию [19]. Также недавние исследования показывают, что НЧ  $\text{TiO}_2$  могут вызывать эффекты клеточной токсичности в

сердечной ткани [20]. Токсические эффекты НЧ  $TiO_2$  наблюдались также в клетках системы кровообращения.

Целью исследования, выполненного в настоящей работе, было создание безопасного фотодинамического способа дезинфекции воздуха в замкнутых помещениях и системах вентиляции, не использующего высокие напряжения и ультрафиолетовое облучение, не ионизирующего и не озонирующего воздух, а также прибора на его основе с подтвержденной противовирусной активностью. Предлагаемый способ базируется на основе применения двух физических методов поражающего воздействия на бактерии, вирусы и другие патогенные микроорганизмы, содержащиеся в очищаемом воздухе. Первый метод базируется на применении в качестве дезинфицирующего материала металлов, обладающих антибактериальной и антивирусной активностью и нетоксичных для организма, таких, как серебро, цинк, медь или их смеси. Второй на основе использования окислительных свойств фотокаталитического элемента, выполненного на базе этих металлов. Два этих метода эффективно дополняют друг друга, так как хорошо известная „контактная форма“ инактивация патогенов на поверхности этих металлов усиливается за счет фотокаталитического образования активных форм кислорода на этих самых поверхностях при их облучении видимым светом. Этот факт, наряду с „контактным убийством“ бактерий и вирусов, свидетельствует и о достаточно высокой фотокаталитической активности этих металлов [21]. Кстати, медь, в отличие от серебра и цинка демонстрирует более быструю и высокую эффективность против бактерий, вирусов и прочих патогенов, находящихся в тесном контакте с ее поверхностью в условиях окружающей среды в помещении, что увеличивает диапазон ее применимости. Поэтому именно медь или ее сплав в виде бронзы были использованы в качестве фотокаталитического элемента в приборе для дезинфекции воздуха, разрабатываемом на основе предложенного метода [22].

## 1. Фотокаталитический элемент на основе меди

Уникальные свойства меди, в частности, высокий олигодинамический эффект („контактное убийство“) в отношении бактерий, вирусов, грибков, давно привлекли широкое внимание исследователей к изучению меди как антибактериального, противогрибкового и противовирусного средства [23,24]. Хотя олигодинамический эффект меди был известен еще с древних времен, в настоящее время к нему снова проявляется повышенный интерес в связи с потенциальным использованием меди в качестве антибактериального материала в медицинских учреждениях. Наряду с чистой медью могут применяться и ее сплавы, например, бронза, но антивирусная активность ее зависит от процентного содержания меди в сплаве, которое не должно быть ниже 85–90%.

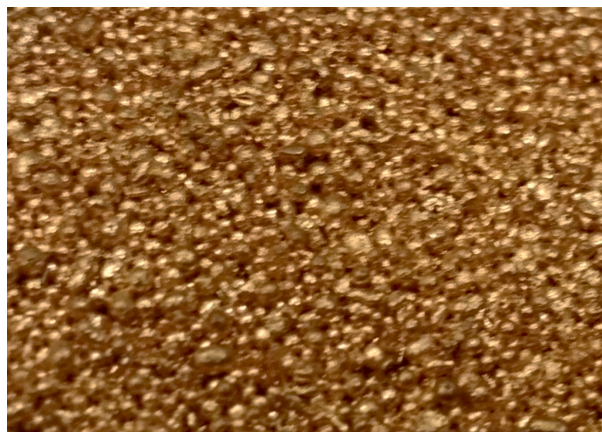


Рис. 1. Бронзовая микропористая мембрана (вид сверху).

Разрушение норовирусов на поверхностях, изготовленных из медных сплавов, было показано в работе [25]. Что касается человеческого коронавируса 229Е, то он также быстро инактивировался на ряде сплавов меди (в течение нескольких минут) [21], а сплав Cu/Zn был очень эффективен при более низких концентрациях меди. Воздействие меди разрушало вирусные геномы и необратимо влияло на морфологию вируса. Cu (I) и Cu (II) были ответственны за инактивацию патогенов, которая усиливалась при освещении за счет образования активных форм кислорода на поверхностях сплавов [21]. Это свидетельствует, как уже было отмечено выше, о высокой фотокаталитической активности меди, следовательно, поверхности из медного сплава могут использоваться в общественных местах и на любых массовых мероприятиях, чтобы помочь уменьшить передачу вирусов с загрязненных поверхностей и защитить здоровье населения.

Учитывая все вышесказанное, именно медь и медные сплавы были предложены нами для создания фотокаталитического элемента, составляющего основу безопасного фотодинамического способа дезинфекции воздуха в замкнутых помещениях и системах вентиляции. Прибор для дезинфекции воздуха, разработанный на этой основе, надежно подтвердил его противовирусную активность [22].

В разработанном приборе очистки и стерилизации воздуха фотокаталитический элемент представляет собой медную или бронзовую микропористую мембрану (рис. 1), освещаемую видимым светом, через которую продувается очищаемый воздух. Пористая структура фотокаталитического элемента способствует увеличению эффективности использования фотодинамических свойств медной поверхности в процессе инактивации патогенов в очищаемом воздухе, поскольку значительно увеличивает площадь облучаемой поверхности (площадь контакта). При освещении видимым светом от светодиодного источника микропористая мембрана толщиной порядка 3 мм работает с использованием всего своего

объема, так как высокая отражательная способность поверхности меди (в среднем 60–70%) способствует глубокому проникновению света в ее объем в процессе многократных отражений излучения от поверхности пор. Вследствие этого она демонстрирует и высокую эффективность уничтожения патогенов. Глубокое проникновение света светодиодного источника в объем микропористой мембраны подтверждается прямым наблюдением заметного свечения на выходе света из мембраны. Оценки оптимальной толщины таких микропористых пластин авторами не выполнялись. Это еще предстоит сделать при дальнейшей модернизации устройства.

Дополнительными преимуществами предложенного способа по сравнению с фотокаталитическими элементами на основе диоксида титана являются увеличение конструкционной прочности фотокаталитического элемента, так как нет осыпания покрытия, как в случае с диоксидом титана, поскольку медесодержащий элемент цельный.

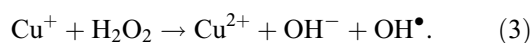
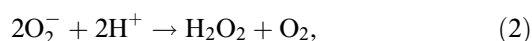
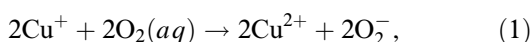
## 2. Механизмы работы фотокаталитического элемента на основе меди

Хорошо известны в основном два типа механизмов антибактериального, противогрибкового и противовирусного действия меди и медных сплавов: контактный и фотокаталитический. Они подразделяются на две группы: механизмы, работающие без освещения, и механизмы, вносящие свой вклад при освещении медесодержащих элементов.

### 2.1. Механизмы, работающие без освещения

Олигодинамический эффект или „контактное убийство“ — прямое воздействие на вирусы ионов меди, диффундирующих внутрь биообъекта с поверхности раздела сред [23], является основным механизмом для инактивации вирусов на 100% медных поверхностях.

Дополнительным механизмом инактивации патогенов, играющим ощутимую роль на поверхности медных сплавов, является генерация деструктивных кислородных радикалов с участием различных частиц, сорбированных на поверхности меди (молекулярным кислородом или вирусной оболочкой) [21]:



### 2.2. Механизмы, работающие при освещении

Химический состав поверхности меди в условиях окружающей среды на сухих медных поверхностях, как правило, содержит и оксиды меди CuO и Cu<sub>2</sub>O с

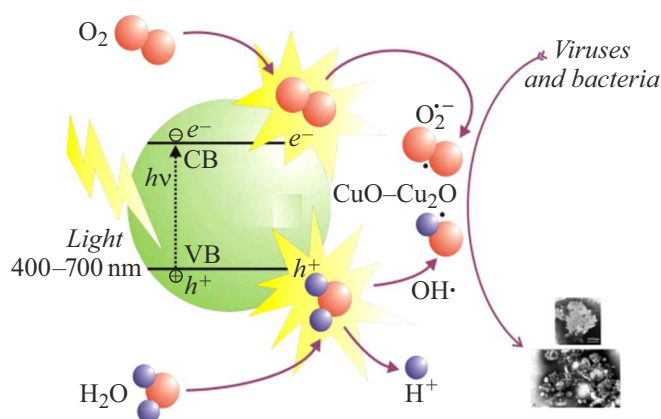
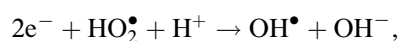
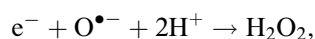
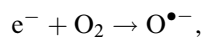
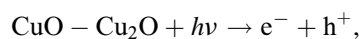


Рис. 2. Схема фотокатализа на оксидах меди.

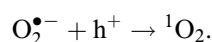
высоким преобладающим содержанием Cu<sub>2</sub>O по сравнению с CuO.

Фотокаталитические процессы на поверхности меди, содержащей оксиды меди, аналогичны фотокаталитическим процессам на поверхности TiO<sub>2</sub> [12,13,26] (рис. 2).

При фотокатализе оксидов меди при освещении медной поверхности видимым светом (ширина запрещенной зоны CuO — 1.3–2.1 eV, а Cu<sub>2</sub>O — 2.1–2.6 eV) образуются кислородные радикалы опять же с участием частиц, сорбированных на поверхности меди (молекулярным кислородом или вирусной оболочкой) [26]:



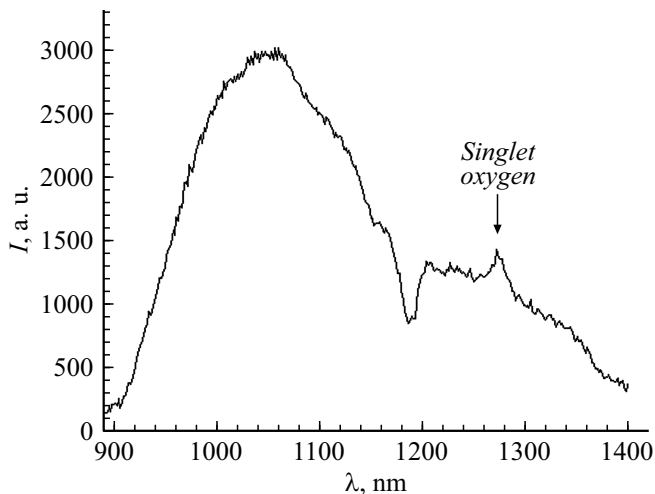
которые могут показывать превосходные характеристики антибактериальной и антивирусной эффективности. При этом Cu<sub>2</sub>O столь же активен в уничтожении патогенов, как и чистая медь, следовательно, поверхность меди сохраняет свои антимикробные и антивирусные свойства даже после образования оксидов [26]. CuO обладает несколько меньшей эффективностью, чем чистая медь, но его роль невелика в условиях преобладающего влияния Cu<sub>2</sub>O. При фотокатализе также образуется и синглетный кислород при взаимодействии супероксид анион-радикала с дыркой [12,13]:



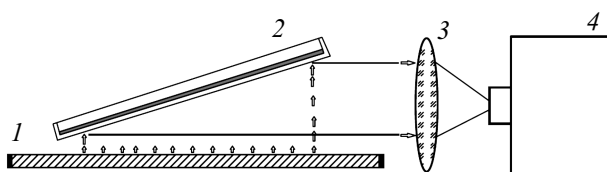
Следует отметить, что синглетный кислород может образовываться не только в результате фотокатализа, но и при прямом возбуждении молекулярного кислорода, сорбированного на поверхности меди [27].

### 3. Прямое возбуждение синглетного кислорода на поверхности фотокаталитического элемента на основе медного сплава

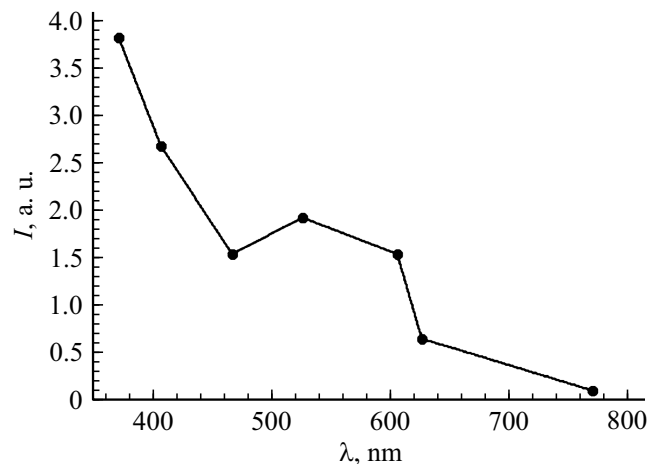
В экспериментах по облучению поверхности медной мембраны (диаметром 30 мм, толщиной 3 мм с диаметром пор от 0.5 до 20  $\mu\text{m}$ ) видимым светом светодиодной матрицы нами наблюдалась люминесценция синглетного кислорода. На рис. 3 показан спектр люминесценции синглетного кислорода при облучении медной поверхности светом от светодиодной матрицы с длиной волны  $\lambda_m = 405 \text{ nm}$  и  $\Delta\lambda_{0.5} \approx 20 \text{ nm}$ . Плотность мощности светового потока светодиодной матрицы  $26 \times 26 \text{ mm}$  составляла  $0.6 \text{ W/cm}^2$ , время экспозиции — 12 с. Схема экспериментальной установки представлена на рис. 4. При исследовании эффективности люминесценции синглетного кислорода был использован метод регистрации люминесценции синглетного кислорода в ИК области спектра на переходе  ${}^1\Delta_g\text{O}_2 \rightarrow {}^3\Sigma_g\text{O}_2$  ( $\lambda = 1270 \text{ nm}$ ) с применением ИК спектрометра SDH-IV с приемной InGaAs-линейкой фирмы Hamamatsu (Япония), выпускаемого фирмой „Солар Лазерные Системы“ (Беларусь). Этот прибор дает возможность надежно регистрировать спектр фосфоресценции синглетного кислорода одновре-



**Рис. 3.** Люминесценция синглетного кислорода на переходе  ${}^1\Delta_g\text{O}_2 \rightarrow {}^3\Sigma_g\text{O}_2$  ( $\lambda = 1270 \text{ nm}$ ) при облучении медной поверхности светом с длиной волны 405 nm.



**Рис. 4.** Схема эксперимента: 1 — светодиодная матрица  $26 \times 26 \text{ mm}$ , 2 — пленка Cu на стекле с диаметром 30 мм, 3 — линза, 4 — спектрометр SDH-IV.



**Рис. 5.** Спектральная зависимость фосфоресценции кислорода при прямом возбуждении излучением светодиодных матриц.

менно с фоновым излучением люминесценции медной поверхности, а также интенсивность фосфоресценции кислорода, позволяя сопоставлять исследуемые образцы друг с другом. Предел спектрального разрешения в исследуемом диапазоне 1065–1330 nm не превышает 1.3 nm. Наблюдение люминесценции синглетного кислорода ведется со всей облучаемой медной поверхности.

Предполагаемый механизм образования синглетного кислорода — прямое возбуждение сорбированного на поверхности кислорода (по аналогии с оксидами металлов) [27]. Наиболее интенсивная люминесценция наблюдалась при облучении меди ультрафиолетовым излучением ( $\lambda = 365 \text{ nm}$ ). Спектральная зависимость интенсивности люминесценции синглетного кислорода при его прямом оптическом возбуждении представлена на рис. 5. На рисунке показаны значения интенсивностей в максимуме спектрального профиля люминесценции кислорода ( $\lambda = 1270 \text{ nm}$ ), отнесенные к плотности мощности светового потока на выходе конкретной светодиодной матрицы. При расчете значений, приведенных на рис. 5, учитывался только сигнал фосфоресценции синглетного кислорода, наблюдающийся над уровнем фонового излучения люминесценции медной поверхности.

Относительно невысокая интенсивность максимума люминесценции синглетного кислорода по сравнению с интенсивностью люминесценции медной поверхности, наблюдаемая на рис. 4, объясняется различием в концентрации медных частиц на поверхности меди и сорбированных молекул кислорода на этой поверхности. При этом в наблюдаемую интенсивность максимума люминесценции синглетного кислорода дают вклад оба механизма возбуждения молекулярного кислорода: фотокаталитический и прямое оптическое возбуждение молекул кислорода.

#### 4. Устройство для обеззараживания воздуха на основе медной мембраны

На базе фотокаталитического элемента на основе меди (мембраны из микропористой бронзы толщиной 3 мм и диаметром 150 мм) было разработано устройство для обеззараживания воздуха. Размеры пор микропористой мембраны, используемой в устройстве, составляют 0.5–20 мкм и выбраны из соображения обеспечения достаточно полного проникновения в пористую структуру мембраны большинства патогенных организмов, присутствующих в воздухе, как например, вирус гриппа или коронавирус размером в среднем 0.1 мкм, а также такие патогенные бактерии, как стафилококки — размером около или чуть больше 10 мкм. Высокая разветвленность микропористой структуры мембраны в сочетании с достаточной ее толщиной гарантирует высокую эффективность фотокаталитической и контактной активности меди при стерилизации воздуха. Следует отметить, что такая мембрана обладает и достаточно высокой газопроницаемостью: диапазон скоростей потока инактивируемого воздуха может составлять от 100 до 400 м<sup>3</sup>/ч при линейной скорости потока от 1.0 до 5.0 м/с.

Предлагаемый способ фотокаталитической очистки и стерилизации воздуха может быть реализован с помощью устройства (УОВ-1), схема которого приведена на рис. 6.

Устройство работает следующим образом. Воздух засасывается в заборное устройство вентилятором 5, фильтруется на входном фильтре 1 от пыли и влаги, проходит через отверстия в радиаторе 2, охлаждающем

светодиодные матрицы 3, и попадает на поверхность фотокаталитической мембраны 4, освещаемой белым светом светодиодами матрицами марки ARPL-100W-EPA-5060.

Светодиоды, излучающие в видимой области спектра от 400 до 780 нм, обеспечивают в процессе работы непрерывное освещение фотокаталитического элемента на основе микропористой медной или бронзовой мембраны белым светом с плотностью мощности не менее 250–500 мВт/см<sup>2</sup>. Общая потребляемая электрическая мощность устройством очистки воздуха составляет порядка 1 кВт. Затрачивается в основном на продувание потока воздуха через микропористую мембрану.

Бактерии и вирусы, содержащиеся в очищаемом воздухе, задерживаются на микропористой мембране и инактивируются под действием контакта с медью в процессе „контактного убийства“ и при взаимодействии с активными формами кислорода, нарабатываемыми на поверхности пористой мембраны при ее облучении светодиодами. Очищенный воздух на выходе микропористой мембраны проходит далее сквозь отверстия вентилятора и через выходное отверстие попадает в помещение.

Испытания предлагаемого устройства очистки и стерилизации воздуха с использованием способа на основе применения освещаемого светодиодами фотокаталитической мембраны на базе пористой бронзы, через который пропускают очищаемый воздух, были выполнены в институте гриппа им. А.А. Смородинцева (Санкт-Петербург) в июне 2020 г.

#### 5. Противовирусная активность устройства на базе фотокаталитического элемента на основе меди

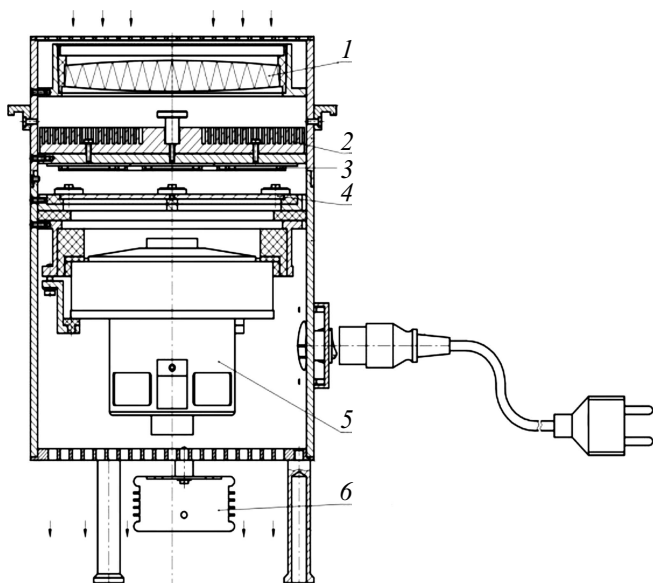
Тестирование вирулицидной активности прибора (устройство обеззараживания воздуха УОВ-1) в отношении вируса гриппа А, штамм А/PR/8/34 (H1N1), проводилось аспирационным (аэрозольным) методом.

##### 5.1. Тест-системы

##### 5.1.1. Культуры клеток

Культура клеток MDCK (Madin-Darby canine kidney) получена из коллекции клеточных культур лаборатории клеточных культур ФГБУ „НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева“. В ходе проведения исследования пассажный уровень после разморозки не превышал 20 пассажей.

Суспензию клеток (10<sup>5</sup> cell/ml) рассевали на 96-луночные планшеты и выращивали в течение суток в СО<sub>2</sub>-инкубаторе при 37°С и 5% СО<sub>2</sub>, после чего плотность монослоя оценивали визуально с помощью инвертированного микроскопа. В работу отбирали только те планшеты, где конфлюентность монослоя составляла более 90%.



**Рис. 6.** Схема устройства обеззараживания воздуха: 1 — входной фильтр, 2 — радиатор охлаждения светодиодных матриц, 3 — светодиодные матрицы, 4 — фотокаталитическая мембрана, 5 — вентилятор, 6 — блок питания светодиодных матриц.



Результаты тестирования вирулицидной эффективности исследуемого прибора в отношении вируса гриппа в воздушной среде

№ эксперимента	Титр вируса, lg ТИД <sub>50</sub> /0.2 ml			Средние значения разницы титров
	Без обработки	После обработки УОВ-1	Разница в титрах по сравнению с контролем	
1	4.5	0	4.5	4.0 ± 0.5
2	4.0	0	4.0	
3	3.5	0	3.5	

### 5.1.2. Поддерживающая среда

На 100 ml среды ДМЕМ (питательная среда ДМЕМ с глутамином, Биолот, Санкт-Петербург) вносили 1 ml раствора антибиотиков (ципрофлоксацин, Синтез, Курган) и 0.1 ml раствора ТРСК-трипсина (конечная концентрация в среде 1 µg/ml).

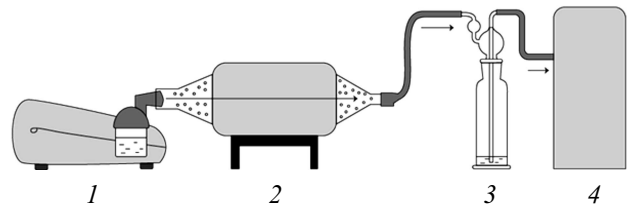
### 5.1.3. Вирусы

В работе был использован вирус гриппа А, штамм А/PR/8/34 (H1N1), получен из рабочей коллекции лаборатории химиотерапии вирусных инфекций. Вирус был размножен в аллантоисной полости 10-дневных развивающихся куриных эмбрионов, после чего аллантоисная жидкость из эмбрионов была собрана, осветлена при помощи центрифугирования на скорости 7000 гpm, и далее вирус был сконцентрирован при помощи центрифугирования на скорости 20000 гpm. Вирусный осадок ресуспендировали в физиологическом растворе до концентрации 10<sup>8</sup> lgТИД<sub>50</sub>/0.1 ml и полученную суспензию распыляли в аэрозольной камере.

### 5.1.4. Аэрозольная система для тестирования эффективности дезинфекции воздуха

Работы производились в герметичном перчаточном боксе, который использовался в качестве аэрозольной камеры. Распыление вирусосодержащей жидкости производилось с помощью медицинского небулайзера Microlife NEB-10 при использовании режима № 3 (размер частиц 10–14 µm). Перемешивание воздуха с аэрозолем осуществлялось с помощью вентилятора Orient F2035. Пробы воздуха объемом 50 m<sup>3</sup> отбирали с помощью аспиратора ПУ-4Э, пропуская культуральную жидкость через склянку Дрекслея для улавливания вируса.

Распыление вирусосодержащей жидкости производили внутри стерильного бокса, подавая вирусный аэрозоль из небулайзера через воронку в прибор (как показано на рис. 7). Сбор обработанного аэрозоля производили на выходе из прибора через вторую воронку при пропуске через склянку Дрекслея, заполненную культуральной средой. Контрольные пробы отбирались тем же способом с использованием вместо прибора полой пластиковой емкости соответствующего размера.



**Рис. 7.** Схема аэрозольной системы для тестирования эффективности дезинфекции воздуха с помощью прибора УОВ-1: 1 — небулайзер, 2 — УОВ-1, 3 — склянка Дрекслея, 4 — аспиратор.

### 5.2. Оценка вирулицидной эффективности

Суспензию, содержащую концентрат вируса гриппа, распыляли и отбирали пробы, как описано выше. После этого оценивали титр вируса в пробах следующим образом: из образцов вируса готовили серию 10-кратных разведений (10<sup>-1</sup>–10<sup>-7</sup>) на среде ДМЕМ с глутамином с добавлением 20 µg/ml ципрофлоксацина, после чего заражали ими 10-дневные развивающиеся куриные эмбрионы. Эмбрионы инкубировали в течение 72 h при температуре 37°C.

Титр вируса в аллантоисной жидкости каждого эмбриона определяли с помощью реакции гемагглютинации, для чего аллантоисную жидкость в объеме 100 µl переносили в соответствующие лунки иммунологических планшетов с U-образным дном и добавляли равный объем 1-% суспензии куриных эритроцитов в физиологическом растворе. По истечении 40 min визуально оценивали наличие или отсутствие гемагглютинации в лунках. Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [28].

### 5.3. Вирулицидная эффективность УОВ-1

Результаты исследования вирулицидной активности тестового образца прибора для дезинфекции воздуха на основе медесодержащей мембраны (УОВ-1) представлены в таблице, где ТИД<sub>50</sub> — 50-% тканевая инфекционная доза — доза вируса, вызывающая заражение 50% клеток.

Из данных, представленных в таблице, видно, что использование исследуемого прибора в каждом из проведенных экспериментов проводило к полной инаktivации

инфекционной активности вируса гриппа (титр вируса = 0)  $\lg$  ТИД<sub>50</sub>/0.2 ml, при этом разница с контролем составляла от 3.5 до 4.5  $\lg$  ТИД<sub>50</sub>/0.2 ml.

Полученные данные подтверждались результатами ПЦР-анализа: в экспериментальных образцах после обработки УОВ-1 вирус гриппа А выделялся на 20.17 цикле, а в контрольных образцах (без обработки УОВ-1) — на 13.95 цикле.

## Заключение

В работе приводятся результаты разработки способа и устройства фотокаталитической очистки и стерилизации воздуха, основанного на применении двух физических методов поражающего воздействия на бактерии и вирусы, базирующихся на окислительных свойствах фотокатализа, включая и синглетный кислород, а также на дезинфицирующих свойствах материалов на основе меди, применяемой в устройстве. В разработанном устройстве зараженный воздух проходит через каталитическую микропористую медную мембрану, освещаемую белым светом светодиодных матриц.

В предложенном способе и устройстве для обеззараживания воздуха отсутствуют высокие напряжения, нет озонирования воздуха, нет ультрафиолетового излучения. В отличие от фотокаталитических устройств с элементом из диоксида титана предложенный фотокаталитический элемент на основе меди и/или медных сплавов обладает большей конструкционной прочностью. В данном устройстве работает не только поверхностный слой катализатора (как у оксида титана), а весь объем мембраны в процессе контактного уничтожения и фотокаталитического механизма за счет глубокого проникновения света в объем мембраны.

В ходе вирусологических исследований установлено, что применение устройства для стерилизации воздуха на основе мембран из меди или медных сплавов приводит к полной инактивации инфекционной активности вируса гриппа, распыленного в форме аэрозоля с размером частиц 10–14  $\mu\text{m}$  при исследовании аспирационным методом. Таким образом, на основании полученных данных можно утверждать, что прибор для дезинфекции воздуха УОВ-1 является эффективным средством для элиминации вируса гриппа в воздушной среде.

Приведенные результаты получены на вирусе гриппа — представителе семейства *Ofrthomyxoviridae*. Вирусы этого семейства являются оболочечными РНК-геномными вирусами, т.е. имеют фосфолипидную оболочку на поверхности вирион, а генетический материал вируса представлен молекулами РНК. Большинство вирусов человека, вызывающих ОРВИ, устроены так же (РС-вирус, вирус парагриппа, коронавирусы, включая SARS-CoV-2). Исходя из этого, с точки зрения термостабильности эти вирусы близки друг к другу. Таким образом, несмотря на отсутствие экспериментальных данных об эффективности описанного способа очистки воздуха

в отношении каждого из перечисленных вирусов, можно с большой долей вероятности полагать, что и остальные вирусы из этого списка будут так же эффективно инактивироваться при помощи УОВ-1. Другие вирусы, вызывающие ОРВИ и не имеющие оболочки (рино- и аденовирусы), являются более термостойкими, и для полной инактивации, возможно, потребуют большей энергии и/или более длительной экспозиции.

## Благодарности

Авторы благодарят и.о. директора ФГБУ „НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева“ Минздрава России, д.м.н. Д.А. Лиознова за организацию вирусологических исследований УОВ-1, а также сотрудников ФГБУ „НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева“ (старшего научного сотрудника А.В. Галочкину, научного сотрудника А.В. Гаршинину, научного сотрудника Г.С. Петухову, младшего научного сотрудника Ю.В. Николаеву) за участие в проведении этих исследований.

Авторы выражают благодарность А.Н. Васильеву и В.С. Пимченко за помощь в производстве образца УОВ-1 для вирусологического исследования, а ООО „Технологии биобезопасности“ — за финансовую поддержку производства образца.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## Список литературы

- [1] R. Gasparini, D. Amicizia, L.P. Lai, N.L. Bragazzi, D. Panatto. *J. Prev. Med. Hyg.*, **55** (3), 69 (2014).
- [2] K. Rogers. 1968 flu pandemic. *Encyclopedia Britannica* [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://www.britannica.com/event/1968-flu-pandemic>. Дата обращения: 24.12.2021.
- [3] S. Rewar, D. Mirdha, P. Rewar. *Ann. Glob. Health*, **81** (5), 645 (2015). DOI: 10.1016/j.aogh.2015.08.014.
- [4] Р.С. Дрейзин, Н.В. Астафьева. *Острые респираторные заболевания* (Медицина, Москва, 1991)
- [5] Л.М. Василяк. *Успехи прикладной физики*, **6** (1), 5 (2018).
- [6] Нера Filter: пат. 6428610 США. Tsai R., Malkan S.R.; № US09/484864; заявл. 18.01.2000; опубл. 06.08.2002.
- [7] *Устройство для обеззараживания воздуха*: пат. 2058156 Рос. Федерация. Фоканов В.П., Павлов А.Б., Бабошин В.Н., Шалларь А.В., Иргашев Б.Б.; № 93 93009355; заявл. 17.02.1993; опубл. 20.06.2000, Бюл. № 17.
- [8] M. Raeiszadeh, B. Adeli. *ACS Photonics*, **7** (11), 2941 (2020). DOI: 10.1021/acsp Photonics.0c01245.
- [9] *Устройство для очистки и обеззараживания воздуха*: пат. 2033272 Рос. Федерация. Першин А.Ф., Байдукин Ю.А., Казеев Ю.Р., Федоров А.В.; № 5031025/15; заявл. 03.04.1992; опубл. 20.04.1995, Бюл. № 24.
- [10] *СанПиН 1.2.3685-21 „Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания“* (Центртраг, Москва, 2022)



- [11] *Устройство для стерилизации и тонкой фильтрации газа*: пат. 2026751 Рос. Федерация. Володина Е.В., Наголкин А.В.; № 5048011/26; заявл. 13.05.1992; опублик. 20.01.1995.
- [12] A.O. Ibhaddon, P. Fitzpatrick. *Catalysts*, **3**, 189 (2013). DOI: 10.3390/catal3010189
- [13] Y. Nosaka, T. Daimon, A.Y. Nosaka, Y. Murakami. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **6**, 2917 (2004). DOI: 10.1039/B405084C
- [14] Д.Ю. Семенов, Ю.Л. Васильев, С.С. Дыдыкин, Е.Ф. Странадко, В.К. Шубин, Ю.К. Богомазов, В.А. Морохотов, А.Н. Щербюк, С.В. Морозов, Ю.И. Захаров. *Biomed. Photon.*, **10** (1), 25 (2021). DOI: 10.24931/2413-9432-2021-10-1-25-31
- [15] P.C.V. Conrado, K.M. Sakita, G.S. Arita, C.B. Galinari, R.S. Gonçalves, L.D.G. Lopes, M.V.C. Lonardoni, J.J.V. Teixeira, P.S. Bonfim-Mendonça, E.S. Kioshima. *Photodiagn. Photodyn.*, **34**, 102221 (2021). DOI: 10.1016/j.pdpdt.2021.102221
- [16] *Фотокаталитический элемент для очистки и обеззараживания воздуха и воды и способ его изготовления*: пат. 2647839 Рос. Федерация. Балихин И.Л., Берестенко В.И., Домашнев И.А., Кабачков Е.Н., Куркин Е.Н., Троицкий В.Н.; № 2015123582; заявл. 20.12.2012; опублик. 21.03.2018, Бюл. № 9.
- [17] *Способ очистки воздуха от органических примесей*: пат. 2071816 Рос. Федерация. Варгаузин А.А., Кузьмин Г.Н., Курганов С.В., Спичкин Г.Л., Чистов Е.К.; № 92 92010987; заявл. 20.01.1997; опублик. 10.06.2002, Бюл. № 16.
- [18] C. Rueda-Romero, G. Hernández-Pérez, P. Ramos-Godínez, I. Vázquez-López, R.O. Quintana-Belmares, E. Huerta-García, E. Stepien, R. López-Marure, A. Montiel-Dávalos, E. Alfaro-Moreno. *Part. Fibre Toxicol.*, **13** (1), 36 (2016). DOI: 10.1186/s12989-016-0147-3
- [19] J. Zhao, L. Bowman, X. Zhang, V. Vallyathan, S.-H. Young, V. Castranova, M. Ding. *J. Toxicol. Env. Heal. A*, **72** (19), 1141 (2009). DOI: 10.1080/15287390903091764
- [20] H. Jawad, A.R. Boccaccini, N.N. Ali, S.E. Harding. *Nanotoxicology*, **5** (3), 372 (2011). DOI: 10.3109/17435390.2010.516844
- [21] S.L. Warnes, Z.R. Little, C.W. Keevil. *mBio*, **6** (6), e01697 (2015). DOI: 10.1128/mBio.01697-15
- [22] *Способ фотокаталитической очистки и стерилизации воздуха*: пат. 2743705 Рос. Федерация. Киселев В.М., Белоусова И.М., Багров И.В., Муравьева Т.Д., Стародубцев А.М., Крисько Т.К., Васильев А.Н., Зарубаев В.В., Штро А.А., Житенев О.С., Лиознов Д.А., Пимченко В.С.; № 2020129482; заявл. 07.09.2020; опублик. 24.02.2021, Бюл. № 6.
- [23] M. Vincent, R.E. Duval, P. Hartemann, M. Engels-Deutsch. *J. Appl. Microbiol.*, **124**, 1032 (2018). DOI: 10.1111/jam.13681
- [24] D. Mitra, E.-T. Kang, K.G. Neoh. *ACS Appl. Mater. Inter.*, **12** (19), 21152 (2020). DOI: 10.1021/acsami.9b17815
- [25] S.L. Warnes, C.W. Keevil. *PLOS One*, **8** (9), e75017 (2013). DOI: 10.1371/journal.pone.0098333
- [26] N.D. Khiavi, R. Katal, S.K. Eshkalak, S. Masudy-Panah, S. Ramakrishna, Hu Jianguyong. *Nanomaterials*, **9** (7), 1011 (2019). DOI: 10.3390/nano9071011
- [27] В.М. Киселев, И.М. Кисляков, А.Н. Бурчинов. *Опт. и спектр.*, **120** (4), 545 (2016). [V.M. Kiselev, I.M. Kislyakov, A.N. Burchinov, *Opt. Spectr.*, **120** (4), 520 (2016). DOI: 10.1134/S0030400X16040123]
- [28] L.J. Reed, H. Muench. *Am. J. Epidemiol.*, **27**, 493 (1938). DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408