



УДК 577.344.3:579.61:666.1.056

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ПОКРЫТИЙ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ (Ag, Zn) В МАТРИЦЕ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ



Е. С. Тучина, Г. А. Гвоздев, И. Д. Кособудский

Тучина Елена Святославна, кандидат биологических наук, доцент, кафедра биохимии и биофизики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, kliany@rambler.ru

Гвоздев Герман Артурович, аспирант, кафедра химии и химической технологии материалов, физико-технический институт, Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., ger7709@yandex.ru

Кособудский Игорь Донатович, доктор химических наук, профессор, кафедра химии и химической технологии материалов, физико-технический институт, Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., ikosobudskiy@gmail.com

Изучено влияние покрытий на основе наночастиц металлов Ag, Zn в матрице диоксида кремния в сочетании с ультрафиолетовым (365 нм) излучением на бактерии *Staphylococcus aureus* 209 P. Показано, что исследуемые покрытия без доступа света ингибируют рост микроорганизмов на 45 % после 3 ч инкубации и на 55–70 % после 5 ч инкубации. Усиление антибактериальных свойств нанопокровтий достигалось экспозицией (365 нм) УФ-излучения. Снижение численности исследуемых микроорганизмов отмечено на 75% после 30 мин воздействия.

**Ключевые слова:** золь-гель метод, нанопокровтие, наночастицы, Ag, Zn, излучение 365 нм, микроорганизмы, *S. aureus*.

DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-211-215

### Введение

Стекланные покрытия с биоактивными свойствами являются одними из многообещающих материалов для строительства, промышленности и медицины. Использование золь-гель метода позволяет внедрять в покрытия различные компоненты, в том числе наночастицы металлов и их оксидов. Поверхностная структура таким образом становится матрицей для возможных физико-химических и биологических процессов. Антибактериальные свойства стекол с нанесенными золь-гель методом наночастицами изучены в ряде исследований [1–6].

В работах [3, 4] пленки оксида цинка, нанесенные на стекло золь-гель методом, использовались в сочетании с метиленовым синим и фотодинамическим воздействием для эффективного угнетения роста *Escherichia coli*. Сложные полимерные комплексы [5], полученные золь-

гель методом и включающие тетраэтоксизтан, триэтоксисилан и полиэтиленгликоль, нанесенные на поверхность стекла, демонстрировали бактерицидные свойства в отношении *E. coli* и *S. aureus*. С помощью данного метода в работе [6] были созданы наностержни на основе гидроксипатита и ионов серебра, при этом максимальный антибактериальный эффект достигался при трехкратном увеличении концентрации серебра.

Особый интерес представляют исследования новых материалов на основе нанопокровтий для стоматологии [7]. В ряде исследований синтезированные золь-гель методом пленки, содержащие ионы серебра [7, 8], цинка и фтора [9], меди и серебра [10], оксидов теллурия и ванадия [11], внедренные в структуру стекла или керамического покрытия, показывали выраженные антимикробные свойства, снижая численности таких микроорганизмов, как *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*.

Данный тип антибактериальных материалов может быть востребован в биомедицинской практике для обеззараживания лабораторной посуды и инструментов, создания поверхностей с программируемыми бактерицидными свойствами.

В связи с вышеизложенным представляло интерес оценить эффективность новых нанопокровтий с ионами различных металлов в составе, индивидуально и в сочетании с ультрафиолетовым излучением для подавления такого клинически значимого вида бактерий, как *S. aureus*.

### Материалы и методы

В работе использовали четыре типа образцов – со скоростью нанесения покрытия 105 и 160 мм/мин, содержащие ионы серебра или ионы цинка (таблица). Частицы наносили в 5 слоев.

#### Характеристики исследуемых образцов наночастиц

Аббревиатура	Металл	Скорость нанесения, мм/мин
Ag-1	Ag	105
Ag-2	Ag	160
Zn-1	Zn	105
Zn-2	Zn	160



Синтез зольей  $\text{SiO}_2+\text{Ag}$  и  $\text{SiO}_2+\text{Zn}$  происходил в следующей последовательности.

1. Растворяли необходимое количество уксусной кислоты (0.2 мл) (катализатора реакций синтеза наночастиц  $\text{SiO}_2$ ) и соли металла (10% по массе  $\text{SiO}_2$ ) в этаноле (33 мл) в течение  $15\pm 5$  мин при  $30\pm 1$  °С.

2. В полученный раствор при постоянном перемешивании прикапывали тетраэтоксисилан (3.9 мл). Перемешивание осуществляли в течение  $30\pm 1$  мин.

3. Помещали раствор в термостат, где он созревал (становился золей)  $72\pm 1$  ч при  $20\pm 1$  °С.

Покрyтия наносили на предметные стекла методом адсорбции из раствора при скорости перемещения стекла в вертикальной плоскости  $105\pm 5$  и  $160\pm 5$  мм/мин. Нанесение последующих слоев происходило без предварительной термообработки предыдущих. После нанесения образец выдерживали в печи при температуре  $500\pm 5$  °С в течение  $10\pm 1$  мин для протекания химических реакций между материалами, обеспечивающими абразивостойкость покрытия, его адгезию к стеклу [12].

Объектом для исследования служил типовой штамм *S. aureus* 209 P (ГИСК им. Л. А. Тарасевича, Москва). Микроорганизмы выращивали при температуре 37 °С на универсальной плотной питательной среде (ГРМ-агар, Оболенск, Россия).

В качестве источника излучения использовали светодиод с длиной волны 365 нм и плотностью мощности 8 мВт/см<sup>2</sup>.

При постановке опытов работали с суточной бактериальной культурой; бактериальную взвесь готовили в стерильном физиологическом растворе. В первой серии экспериментов из разведения микроорганизмов  $10^6$  мк/мл отбирали 0,1 мл взвеси и наносили на поверхность контрольных и исследуемых стеклянных образцов, помещенных в стерильные чашки Петри. Инкубировали при 25°С в течение 1, 2, 3, 4, 5 ч без доступа света. По окончании времени инкубации 0,1 мл суспензии со стекла переносили на поверхность плотной питательной среды.

Во второй серии экспериментов из конечного разведения микроорганизмов ( $10^6$  мк/мл) взвесь в объеме 0.1 мл вносили в ячейки иммунологического полистирольного планшета. Источник излучения располагали над ячейками планшета. Облучали бактериальные взвеси в течение 5, 10, 15 и 30 мин. После воздействия взвеси бактерий переносили на чашки Петри с плотной питательной средой и равномерно распределяли по поверхности стерильным шпателем. Учет результатов проводили путем подсчета числа колониеобразующих единиц (КОЕ) через 24–48 ч после инкубации при 37°С.

Контролем (100%) служили показатели КОЕ для взвесей бактерий, нанесенных на поверхность чистого стекла, не контактировавших с нанопленками, не подвергнутых облучению. Каждый эксперимент проводили в десятикратной повторности. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали программу Microsoft Excel 2010.

### Результаты и их обсуждение

В первой серии опытов изучали антибактериальные свойства нанопленок без доступа света (рис. 1). Показано, что матричная основа для золя –  $\text{SiO}_2$  – не оказывает выраженного действия на микроорганизмы по сравнению с контролем. Численность стафилококков в контрольных образцах через 2 ч инкубации снижалась на 7%, через 3 ч – на 12%, через 4 ч – на 25%, через 5 ч – на 47%. Для образцов с нанесенным на поверхность золей  $\text{SiO}_2$  сокращение КОЕ статистически от контрольного не отличалось.

Установлено, что внедрение наночастиц цинка в материал покрытия оказывает угнетающее действие на клетки микроорганизмов. Уже через 1 ч после инкубации отмечено уменьшение числа КОЕ на 26% для образца Zn-1 и на 27% для образца Zn-2. При дальнейшей инкубации до 5 ч сокращение бактериальной популяции достигало 55% для образца Zn-1 и 58% для образца Zn-2.

Исследуемые покрытия, содержащие ионы серебра, обладали более выраженным антибактериальным эффектом при длительной инкубации. Например, 3-часовое взаимодействие бактериальной суспензии с поверхностью образца Ag-1 обуславливало гибель 50% популяции *S. aureus*. К 4-м часам инкубации данный показатель достигал 59%, а к 5-ти часам – 65%. Сокращение числа КОЕ при использовании образца Ag-2 носило еще более выраженный характер. Численность микроорганизмов через 2 ч инкубации снижалась на 30 %, через 3 ч – на 52%, через 4 ч – на 63%, через 5 ч – на 70% (см. рис. 1).

На втором экспериментальном этапе оценивали возможность усиления антибактериального действия исследуемых покрытий путем фотодинамического воздействия светодиодным излучением с длиной волны 365 нм.

Облучение взвесей микроорганизмов, не контактировавших с нанопокрyтиями, приводило к сокращению числа КОЕ на 10% после 5 мин воздействия, на 51% – после 30 мин. Как и в предыдущей серии опытов, присутствие оксида кремния на поверхности образца статистически достоверного влияния на снижение численности бактериальной популяции не оказывало (рис. 2).

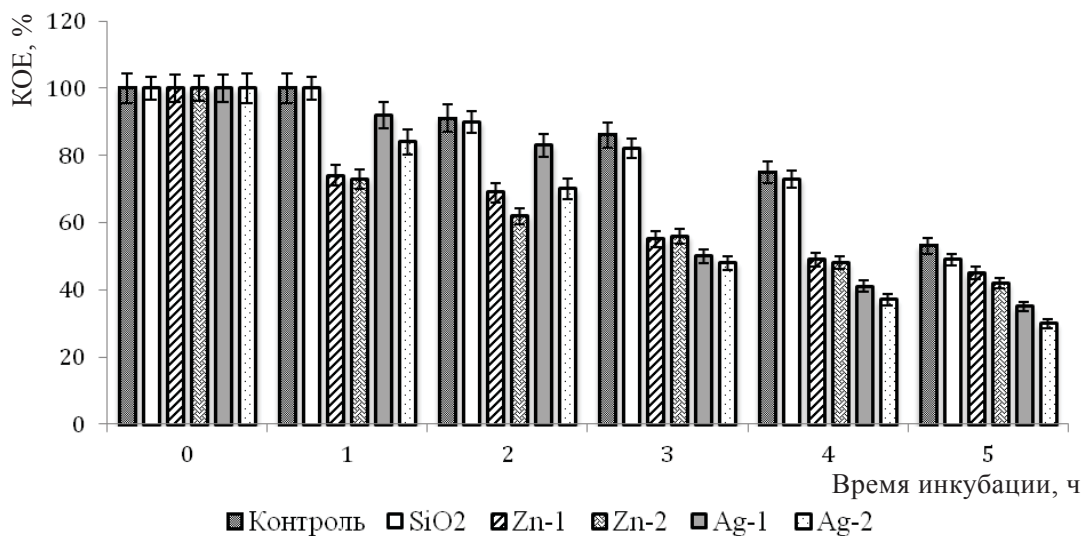


Рис. 1. Изменение численности *S. aureus* 209 P при инкубации на поверхности образцов наноматериалов

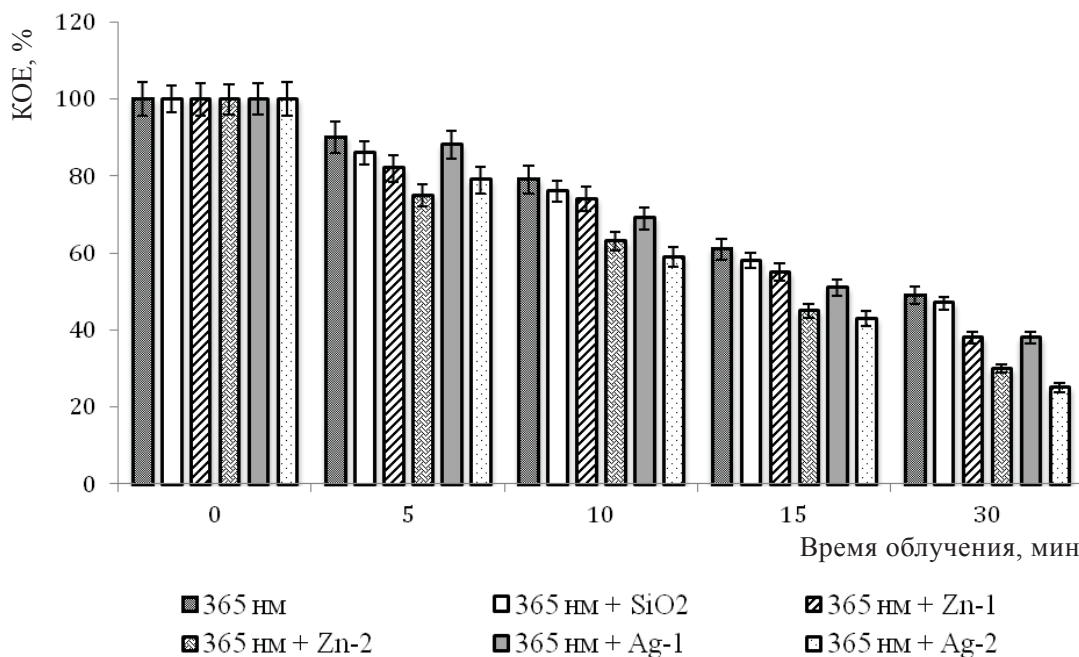


Рис. 2. Изменение численности *S. aureus* 209 P при комплексном воздействии светодиодного (365 нм) УФ-излучения и наноматериалов

При действии излучения на покрытия, содержащие как ионы цинка, так и ионы серебра, эффект (20–40% подавления роста бактерий), сравнимый с 1–2 ч инкубации, достигался в течение 5–10 мин. Снижение численности *S. aureus* на 50–62% происходило после 15 мин экспозиции излучения, что соответствовало 4 ч инкубации без доступа света. Максимально низкое число КОЕ (25% выживаемости) при данных условиях эксперимента отмечено для

образца Ag-2 в сочетании с 30-минутным действием облучения (см. рис. 2).

Современные нанотехнологии позволяют создавать разнообразные материалы с заданными целевыми свойствами, применимые как в узкоспециализированных отраслях, так и в повседневной жизни. Изучение свойств высокотехнологичных матриц с внедренными наночастицами является интересной прикладной задачей.



Как показано в данном исследовании, наночастицы цинка вызывают заметное снижение численности золотистого стафилококка уже после 1 ч инкубации в темноте (сокращение КОЕ на 42–48%). Однако к 5 ч инкубации наночастицы серебра оказались на 5–10 % более эффективными (сокращение КОЕ на 70%). При этом ингибирующее действие образцов с разной скоростью нанесения нанопокровов достоверно отличалось только для нанопокровов, содержащих ионы серебра.

Ранее в наших исследованиях [13] было показано, что наночастицы диоксида титана, находящиеся в матрице гипса и допированные различными ионами (N, Pd), в сочетании со светодиодным излучением приводят к выраженной гибели бактериальной популяции. В настоящей работе показано, что светодиодное (365 нм) УФ-излучение в ходе фотодинамических процессов в 4–5 раз усиливает антимикробное действие нанопокровов, содержащих ионы Zn и Ag. При этом мы предполагаем, что данный эффект может быть усилен: 1) выбором волны излучения, более близкой к максимуму поглощения наночастиц; 2) нанесением большего числа слоев наночастиц; 3) использованием комбинации различных наночастиц в составе одного покрытия.

#### Благодарности

Авторы выражают признательность сотрудникам ОАО «Саратовский институт стекла» за помощь в синтезе нанопокровов.

#### Список литературы

1. Cannavale A., Fiorito F., Manca M., Tortorici G., Cingolani R., Gigli G. Multifunctional bioinspired sol-gel coatings for architectural glasses // *Building and Environment*. 2010. Vol. 45 (5). P. 1233–1243.
2. Martin R. A., Yue S., Hanna J. V., Lee P. D., Newport R. J., Smith M. E., Jones J. R. Characterizing the hierarchical structures of bioactive sol-gel silicate glass and hybrid scaffolds for bone regeneration // *Trans. R. Soc. A*. 2012. Vol. 370. P. 1422–1443.
3. Thongsuriwong K., Amornpitoksuk P., Suwanboon S. Structure, morphology, photocatalytic and antibacterial activities of ZnO thin films prepared by sol-gel dip-coating method // *Advanced Powder Technology*. 2013. Vol. 24 (1). P. 275–280.
4. Choi H.-J., Choi J.-S., Park B.-J., Eom J.-H., Heo S.-Y., Jung M.-W., An K.-S., Soon-Gil Yoon S.-G. Enhanced transparency, mechanical durability, and antibacterial activity of zinc nanoparticles on glass substrate // *Sci. Rep.* 2014. Vol. 4. P. 6271–6280.
5. Marini M., Bondi M., Iseppi R., Toselli M., Pilati F. Preparation and antibacterial activity of hybrid materials containing quaternary ammonium salts via sol-gel process // *Europ. Polymer J.* 2007. Vol. 43 (8). P. 3621–3628.
6. Jadalannagari S., Deshmukh K., Ramanan S. R., Kowshik M. Antimicrobial activity of hemocompatible silver doped hydroxyapatite nanoparticles synthesized by modified sol-gel technique // *Applied Nanoscience*. 2014. Vol. 4 (2). P. 133–141.
7. Chatzistavrou X., Fenno J.C., Faulk D., Badylak S., Kasuga T., Boccaccini A.R., Papagerakis P. Fabrication and characterization of bioactive and antibacterial composites for dental applications // *Acta Biomaterialia*. 2014. Vol. 10 (8). P. 3723–3732.
8. Paiva L., Fidalgo T., da Costa L., Maia L., Balan L., Anselme K., Ploux L., Thire R. Antibacterial properties and compressive strength of new one-step preparation silver nanoparticles in glass ionomer cements (NanoAg-GIC) // *J. Dent.* 2018. Vol. 69. P. 102–109.
9. Liu L., Pushalkar S., Saxena D., LeGeros R., Zhang Y. Antibacterial Property Expressed by a Novel Calcium Phosphate Glass // *J. Biomed. Mater. Res. B*. 2014. Vol. 102 (3). P. 423–429.
10. Palza H., Escobar B., Bejarano J., Bravo D., Diaz-Dosque M., Perez J. Designing antimicrobial bioactive glass materials with embedded metal ions synthesized by the sol-gel method // *Materials Science and Engineering: C*. 2013. Vol. 33 (7). P. 3795–3801.
11. Elkhoshkhany N., Reda A., Embaby A. M. Preparation and study of optical, thermal, and antibacterial properties of vanadate-tellurite glass // *Ceramics Intern.* 2017. Vol. 43 (17). P. 15635–15644.
12. Guzman M. G., Dille J., Godet S. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity // *PWASET*. 2008. Vol. 33. P. 367.
13. Mohl M., Dombovari A., Tuchina E. S., Petrov P. O., Bibikova O. A., Skovorodkin I., Popov A. P., Rautio A. R., Sarkar A., Mikkola J. P., Huuhtanen M., Vainio S., Keiski R. L., Prilepsky A., Kukovec K., Konya Z., Tuchin V. V., Kordas K. Titania nanofibers in gypsum composites: an antibacterial and cytotoxicology study // *J. Mater. Chem. B*. 2014. Vol. 2. P. 1307–1316.

#### The Study of Antibacterial Properties of Coatings Based on Metal (Ag, Zn) Nanoparticles in Silicon Dioxide Matrix

E. S. Tuchina, G. A. Gvozdev, I. D. Kosobudskiy

Elena S. Tuchina, ORCID 0000-0003-4498-2846, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, kiany@rambler.ru

German A. Gvozdev, Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, 77, Politechnicheskaya Str., Saratov, 410054, Russia, ger7709@yandex.ru

Igor D. Kosobudskiy, Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, 77, Politechnicheskaya Str., Saratov, 410054, Russia, ikosobudskiy@gmail.com





The influence of coatings on the basis of Ag and Zn metal nanoparticles in a silica matrix in combination with ultraviolet (365 nm) radiation on *Staphylococcus aureus* 209 P bacteria was studied. It was shown that the investigated coatings without access to light inhibit the growth of microorganisms by 45% after 3 hours of incubation and 55–70% after 5 hours of incubation. Enhancement of antibacterial properties of nanocoatings was achieved by exposure to UV (365 nm) radiation. The decrease in

the number of studied microorganisms was noted by 75% after 30 min of exposure.

**Key words:** sol-gel method, nanocoating, nanoparticles, Ag, Zn, 365 nm radiation, microorganisms, *S. aureus*.

*Acknowledgements:* The authors are grateful to the employees of JSC “Saratov Institute of Glass” for their assistance in the synthesis of nanocoatings.

---

**Образец для цитирования:**

Тучина Е. С., Гвоздев Г. А., Кособудский И. Д. Изучение антибактериальных свойств покрытий на основе наночастиц металлов (Ag, Zn) в матрице диоксида кремния // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 2. С. 211–215. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-211-215.

**Cite this article as:**

Tuchina E. S., Gvozdev G. A., Kosobudskiy I. D. The Study of Antibacterial Properties of Coatings Based on Metal (Ag, Zn) Nanoparticles in Silicon Dioxide Matrix. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 2, pp. 211–215 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-211-215.

---