

МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 602.4:544.023.26

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ И ОКСИДА ЦИНКА С ЦЕЛЬЮ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИХ В КАЧЕСТВЕ ДОБАВОК В ПРОИЗВОДСТВЕ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПЛЕНОК

Л.С. Дышлюк, А.Ю. Просеков

Кемеровский государственный университет, Кемерово

Перспективы использования наночастиц металлов и их оксидов для создания биоразлагаемых пленок с антимикробными свойствами очень высоки сегодня, ведь в сравнении с органическими антибактериальными средствами нанокристаллические оксиды металлов обладают большей долговечностью, меньшей токсичностью, лучшей избирательностью и термостойкостью. Интерес для исследований вызывают не только популярные сейчас добавки с наночастицами серебра, но и материалы на основе других неорганических и органических веществ, таких как наночастицы оксида цинка, меди, диоксида титана и диоксида кремния. Вопрос применения этих наночастиц остается открытым, поскольку на сегодняшний день имеется слишком мало данных о биологических эффектах при применении данных препаратов. В данной статье приведены исследования свойств таких добавок, как наночастицы меди (Cu) и оксида цинка (ZnO) для изучения возможности придания биоразлагаемым пленкам антимикробных свойств.

Ключевые слова: *биополимеры, упаковочные материалы, биоразлагаемые пленки, антибактериальные свойства, антимикробные компоненты, биоразлагаемые полимеры, наночастицы металлов, нанодобавки.*

DOI: 10.26456/vtbio112

Введение. Проблема создания упаковочных полимерных материалов, обладающих антимикробной активностью, стала в последнее время весьма актуальной. Введение антимикробных компонентов непосредственно в сам слой материала на стадии его получения способствует значительному улучшению защитного свойства полимерных биоразлагаемых упаковочных материалов, а так же предохраняет их от воздействия микроорганизмов в критических условиях эксплуатации и дает возможность придавать товарам антимикробные свойства, например, устойчивость к воздействию

болезнетворных организмов.

Следует отметить, что в современном производстве перспективным направлением является использование наночастиц металлов и их соединений в качестве биоцидного агента, ведь наночастицы обладают большей 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.

В настоящее время интерес исследователей вызывают не только препараты на основе наночастиц серебра, как наиболее распространенные биодобавки, но и на основе других неорганических и органических веществ, таких как наночастицы оксида цинка, меди, диоксида титана и диоксида кремния.

Были проведены исследования антибактериальных свойств наночастиц меди (Cu) и оксида цинка (ZnO) с целью изучения их антимикробных свойств при использовании в качестве добавок в производстве биоразлагаемых пленок.

Методика. Получение наночастиц меди было осуществлено двумя способами:

1. Восстановление ионов меди кверцетином в обратных мицеллах – в системе вода-ПАВ-алкан. В качестве поверхностно-активного вещества использовали АОТ – натриевую соль бис-(2-этилгексил)сульфосукцината, а в качестве предельного углеводорода – октан. Начало образования наночастиц меди обнаруживали после введения соли меди по появлению интенсивной окраски раствора.

2. Восстановление ионов меди (II) водным раствором боргидрида натрия. К 20 мл водного раствора сульфата меди (II) (концентрация $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л), содержащего поверхностно-активное вещество (додецилсульфат натрия в концентрации от $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л), быстро приливали 10 мл раствора боргидрида натрия (концентрация 0,1 моль/л). Описанный выше процесс проводили в термостатированной ячейке при температуре 50°C при непосредственном контакте с воздухом.

Наноразмерный оксид цинка в работе получен с использованием двух подходов:

1. Термолиз оксалата цинка $ZnC_2O_4 \cdot 2H_2O$. Оксалат цинка синтезировали осаждением при смешении растворов нитрата цинка (0,1 М) и щавелевой кислоты (0,2 М) при pH=4. Затем полученный раствор выдерживали в течение 5 ч при температуре 340 К.

2. Осаждение оксида цинка из этанольного раствора ацетата цинка при нагревании до 333 К.

Распределение наночастиц меди и оксида цинка по размерам было изучено с использованием лазерного дифракционного анализатора размеров частиц Shimadzu SALD 7101. Измерения проводились в дистиллированной воде при постоянном механическом перемешивании и под действием ультразвуковых колебаний для предотвращения агломерации частиц.

Исследование антимикробных свойств наночастиц меди и оксида цинка проводили количественным суспензионным методом согласно европейским стандартам исследования антимикробной активности дезинфектантов и антисептиков EN 13727:2003, EN 13624:2003 и EN 14347:2005. В качестве тест-штаммов использовали: *Escherichia coli* B 4207, *Pseudomonas aeruginosa* B 6643, *Staphylococcus aureus* B 8171, *Enterococcus hirae* B 5099, *Bacillus subtilis* B1448, *Salmonella enteridis* ATCC 13076, *Aspergillus niger* F876, *Candida albicans* Y2808. Исследование антибактериальной активности пленок осуществляли в соответствии с ISO 22196:2011. Во всех образцах растворов концентрация наночастиц составляла 0,10%, 0,05% и 0,01%.

Результаты и обсуждение. Данные, полученные в результате экспериментов (рис. 1 и рис. 2), свидетельствуют о том, что среди наночастиц меди, полученных методом восстановления кверцетином, преобладают частицы размером 12-14 нм, а среди наночастиц меди, полученных боргидридным методом, – 8-10 нм.

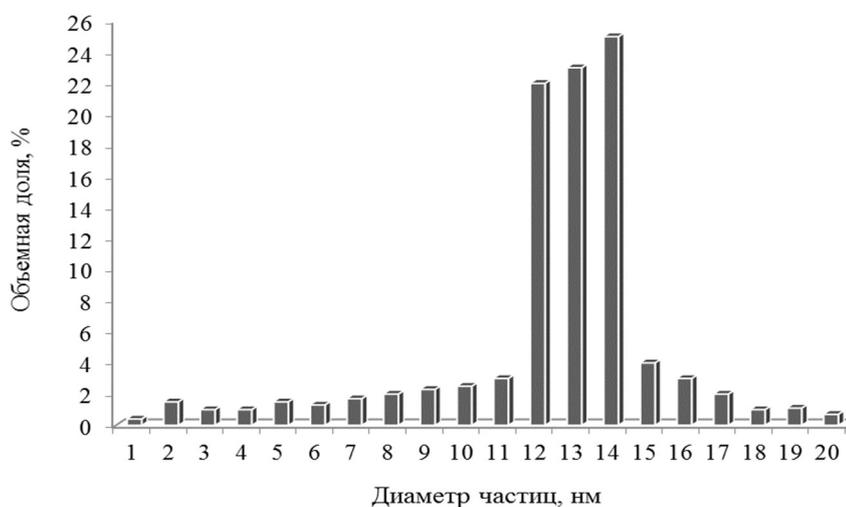


Рис. 1. Распределение наночастиц меди в мицеллярном растворе кверцетина

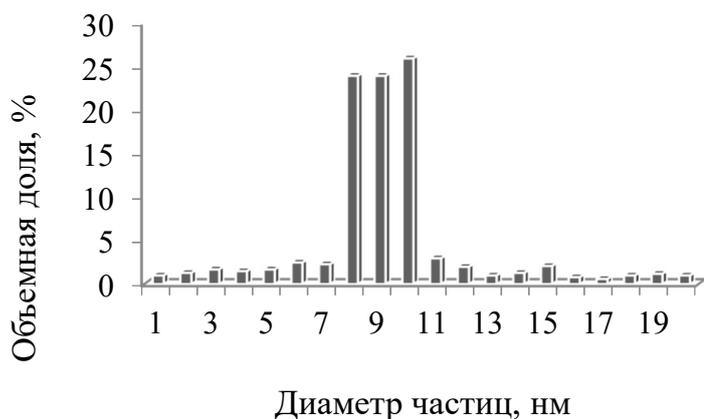


Рис. 2. Распределение наночастиц меди в растворе (боргидридный метод)

Результаты исследования оптических свойств наночастиц меди, полученных двумя способами, показали (рис. 3), что максимум оптического поглощения раствора наночастиц меди, полученного первым способом, приходится на длину волны 530-570 нм, а полученного вторым способом – на 520-560 нм.

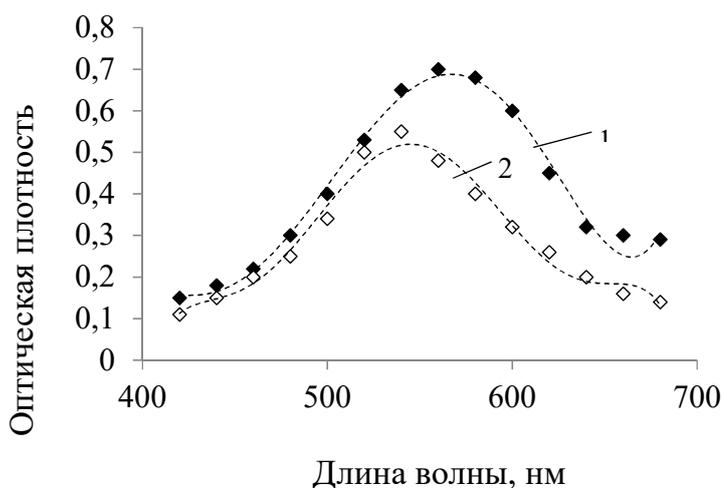


Рис. 3. Спектры оптического поглощения растворов наночастиц меди:
1 – восстановление ионов меди кверцетином в обратных мицеллах,
2 – боргидридный метод

Данные исследований (рис. 4 и рис. 5) позволили сделать вывод о том, что среди тестируемых наночастиц оксида цинка, полученных методом термолиза оксалата цинка, в большинстве преобладают частицы 5-7 нм, а среди наночастиц оксида цинка, полученных методом осаждения из этанольного раствора ацетата цинка, – 2-4 нм.

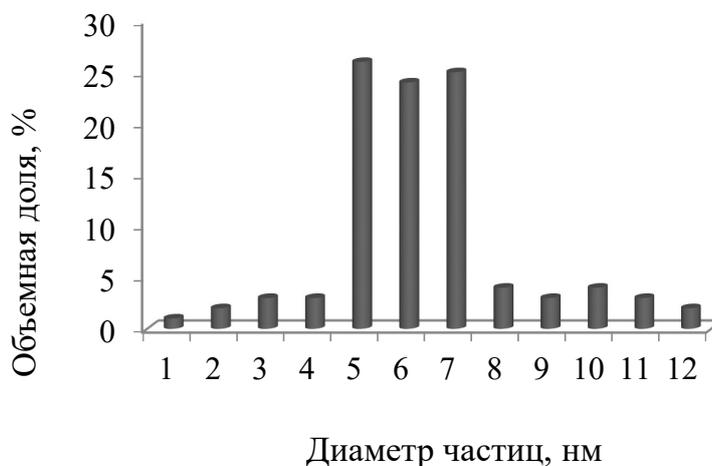


Рис. 4. Распределение наночастиц оксида цинка, полученных методом термоллиза оксалата цинка

При изучении оптических свойств наночастиц оксида цинка, полученных двумя способами (рис. 6), выяснили, что растворы наночастиц оксида цинка характеризуются широкими полосами поглощения в УФ-области спектра с резким подъемом поглощения при длине волны 380 нм.

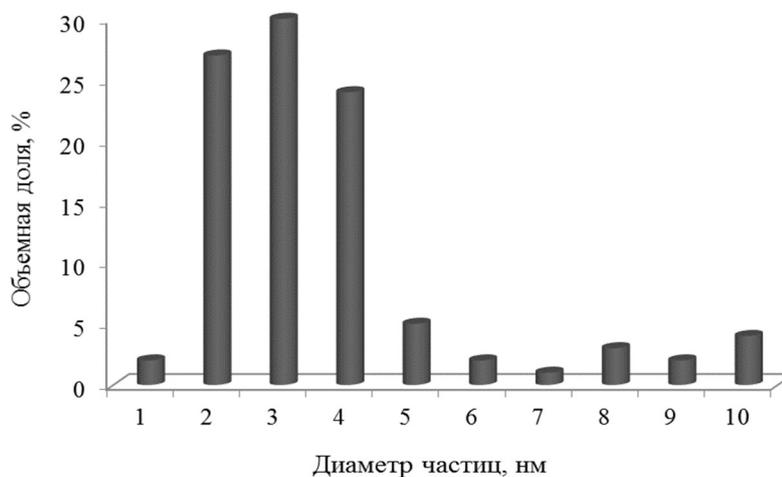


Рис. 5. Распределение наночастиц оксида цинка, полученных методом осаждения из этанольного раствора ацетата цинка

Таблица 1

Антимикробная активность растворов наночастиц меди и оксида цинка

Вид nano-частиц и концентрация раствора	Концентрация микроорганизмов (lgN) для разных тест-штаммов							
	<i>Escherichia coli</i> B 4207	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> B 6643	<i>Staphylococcus aureus</i> B 8171	<i>Enterococcus hirae</i> B 5099	<i>Bacillus subtilis</i> B1448	<i>Salmonella enteridis</i> ATCC 13076	<i>Aspergillus niger</i> F876	<i>Candida albicans</i> Y2808
Наночастицы меди, способ получения №1								
0,10%	5,90± 0,41	5,55± 0,39	4,80± 0,34	5,21± 0,37	4,43± 0,31	4,75± 0,33	4,45± 0,31	4,62± 0,32
0,05%	5,85± 0,41	5,55± 0,39	4,80± 0,34	5,13± 0,36	4,25± 0,30	4,75± 0,33	4,45± 0,31	4,62± 0,32
0,01%	5,78± 0,40	5,55± 0,39	4,80± 0,34	5,13± 0,36	4,18± 0,29	4,75± 0,33	4,45± 0,31	4,62± 0,32
Наночастицы меди, способ получения №2								
0,10%	6,06± 0,42	5,12± 0,36	5,02± 0,35	4,97± 0,35	5,25± 0,37	4,89± 0,34	4,15± 0,29	4,75± 0,33
0,05%	6,06± 0,42	5,12± 0,36	5,02± 0,35	4,97± 0,35	5,25± 0,37	4,89± 0,34	4,15± 0,29	4,75± 0,33
0,01%	5,96± 0,42	5,12± 0,36	5,02± 0,35	4,97± 0,35	5,25± 0,37	4,89± 0,34	4,15± 0,29	4,75± 0,33
Наночастицы оксида цинка, способ получения №1								
0,10%	4,75± 0,33	4,44± 0,31	4,98± 0,35	4,18± 0,30	5,12± 0,36	3,98± 0,28	4,20± 0,29	4,88± 0,34
0,05%	4,70± 0,33	4,44± 0,31	4,98± 0,35	4,18± 0,30	5,12± 0,36	3,98± 0,28	4,20± 0,29	4,88± 0,34
0,01%	4,55± 0,32	4,10± 0,29	4,98± 0,35	4,15± 0,29	5,12± 0,36	3,98± 0,28	4,20± 0,29	4,88± 0,34
Наночастицы оксида цинка, способ получения №2								
0,10%	5,07± 0,35	4,30± 0,30	4,88± 0,34	4,66± 0,33	5,35± 0,37	4,04± 0,28	3,85± 0,27	4,92± 0,34
0,05%	5,03± 0,35	4,30± 0,30	4,88± 0,34	4,66± 0,33	5,35± 0,37	4,04± 0,28	3,85± 0,27	4,92± 0,34
0,01%	5,00± 0,35	4,30± 0,30	4,88± 0,34	4,66± 0,33	5,35± 0,37	4,04± 0,28	3,85± 0,27	4,92± 0,34

При изучении оптических свойств наночастиц оксида цинка, полученных двумя способами (рис. 6), выяснили, что растворы наночастиц оксида цинка характеризуются широкими полосами поглощения в УФ-области спектра с резким подъемом поглощения при длине волны 380 нм.

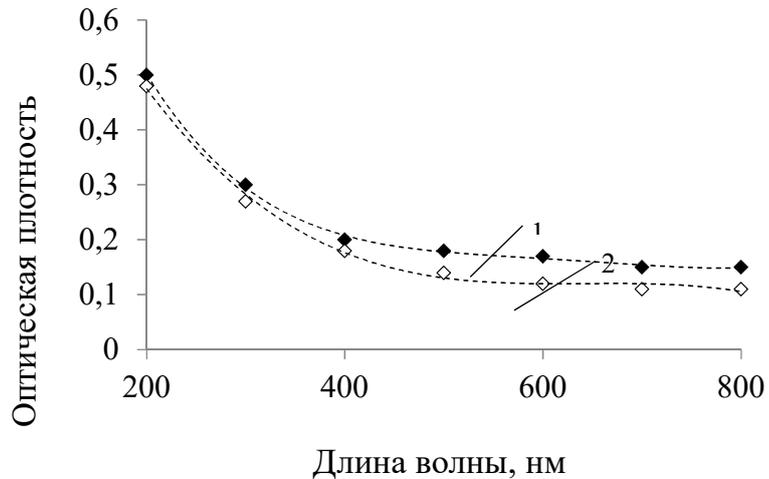


Рис. 6. Спектры оптического поглощения растворов наночастиц оксида цинка: 1 – термолиз оксалата цинка, 2 – осаждение из этанольного раствора ацетата цинка

Данные, полученные в результате исследования антибактериальной активности биоразлагаемых пленок представлены в таблице (Таблица 1). Во всех образцах растворов концентрация наночастиц составляла 0,10%, 0,05% и 0,01%, соответственно.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о том, что растворы наночастиц меди и оксида цинка независимо от способа получения характеризуются выраженными антимикробными свойствами по отношению к тестируемым штаммам, причем бактерицидное действие проявляется уже при концентрациях растворов наночастиц 0,01%.

Наиболее чувствительными штаммами по отношению к растворам наночастиц меди являются тест-штаммы *Bacillus subtilis* В1448 и *Enterococcus hirae* В 5099, наибольшую устойчивость демонстрирует штамм *Escherichia coli* В 4207.

Штаммы *Bacillus subtilis* В1448 и *Candida albicans* Y2808 проявляют максимальную чувствительность по отношению к растворам наночастиц оксида цинка, штаммы *Pseudomonas aeruginosa* В 6643 и *Enterococcus hirae* В 5099 являются наиболее устойчивым по отношению к данному виду наночастиц.

Список литературы

- Бабушкина И.В., Бородулин В.Б., Коришунов Г.В., Пучиньян Д.М. 2010. Изучение антибактериального действия наночастиц меди и железа на клинические штаммы *Staphylococcus aureus* // Саратовский научно-медицинский журнал. Т.6. №1. С.11-14.
- Донцова, Э., Жарненкова О., Снежко А., Узденский В. 2014. ПМ с

- антимикробными свойствами // Пластикс. №1-2. С. 30-35.
- Лим Л.Т.* 2009. Биоразлагаемая упаковка для пищевых продуктов. Масла и жиры. №6. С. 24-28.
- Нагорный М.Ю., Федотова О.Б.* 2013. Упаковочный материал с антимикробными свойствами // Молочная промышленность. №4. С. 50-51.
- Сайкова, С.В., Воробьев С.А., Михлин Ю.Л.* 2012. Влияние реакционных условий на процесс образования наночастиц меди при восстановлении ионов меди (II) водными растворами боргидрида натрия // Journal of Siberian Federal University. Chemistry. №1. P. 61-72.
- Egorova E.M., Revina A.A.* 2000. Synthesis of metallic nanoparticles in reverse micelles in the presence of quercetin // Colloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects. №168. P. 87-96.
- EN 13727:2003 Chemical disinfectants and antiseptics. 2006. Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity for instruments used in medical area. Test method and requirements. // Brussels: European Committee for Standardization.
- EN 13624:2003 Chemical disinfectants and antiseptics. 2003. Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal activity for instruments used in medical area. Test method and requirements. // Brussels: European Committee for Standardization.
- EN 14347:2005 Chemical disinfectants and antiseptics. 2005. Basic sporicidal activity. Test method and requirements. // Brussels: European Committee for Standardization.
- Hosono E., Fujihara S.* 2004. Non-Basic Solution Routes to Prepare ZnO Nanoparticles // J. of Sol-Gel Science and Technology. V. 29. P. 71-79.
- Jones N., Ray B., Ranjit K.T., Manna A.C.* 2008. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms // FEMS Microbiol. Lett. Vol. 279. P. 71-76.
- Malecka B., Malecki A.* 2004. Mechanism and kinetics of thermal decomposition of zinc oxalate // Thermochemica Acta. V. 423. P. 13-18.
- Mudunkotuwa A., Rupasinghe T., Chia-MingWu, H.Grassian V.* 2012. Dissolution of ZnO Nanoparticles at Circumneutral pH: A Study of Size Effects in the Presence and Absence of Citric Acid // Langmuir. V.28 (1). P. 396-403.

**STUDY OF ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF
NANOPARTICLES OF CUPRUM AND ZINC OXIDE
TO USE THEM AS ADDITIVE COMPONENTS
IN PRODUCTION OF BIODEGRADABLE MEMBRANES**

L.S. Dushlyuk, A.Yu. Prosekov
Kemerovo State University», Kemerovo

The perspectives of using nanoparticles of metals and their oxides for creating biodegradable membranes are very high nowadays, as compared to organic antibacterial agents, nanocrystal oxides of metals have bigger longevity, lesser toxicity, better selectivity and thermal stability. Of interest for research are not only the currently popular additives with silver nanoparticles, but also materials based on other inorganic and organic substances, such as nanoparticles of zinc oxide, copper, titanium dioxide and silicon dioxide. The question of the use of these nanoparticles remains open as we currently have little basal data about biological effects in applying these preparations. Our work deals with the selection of antibacterial agent that gives the biodegradable membranes antimicrobial characteristics.

Keywords: *biopolymers, packing materials, biodegradable membranes, antibacterial properties, antimicrobial components, biodegradable polymers, metal nanoparticles, nanoadditives.*

Об авторах:

ДЫШЛЮК Любовь Сергеевна – кандидат биологических наук, руководитель Научно-образовательного центра, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», 650000, Кемерово, ул. Красная, 6, e-mail: dyshlyuk85@bk.ru.

ПРОСЕКОВ Александр Юрьевич – доктор технических наук, ректор, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», 650000, Кемерово, ул. Красная, 6, e-mail: olich.43@mail.ru.

Дышлюк Л.С. Исследование антибактериальных свойств наночастиц меди и оксида цинка с целью использования в качестве добавок в производстве биоразлагаемых пленок / Л.С. Дышлюк, А.Ю. Просеков // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2019. № 3(55). С. 194-202.