

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра биохимии и биофизики

**АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
НОВЫХ НАНОКОМПОЗИТОВ
НА ОСНОВЕ ОКСИДОВ ТИТАНА И АЛЮМИНИЯ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 421 группы

Направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Светлаковой Анны Владимировны


Научный руководитель:

доцент, канд. биол. наук

 11.06.11. Е.С. Тучина
дата, подпись

Зав. кафедрой:

профессор, док.биол. наук


дата, подпись
11.06.20

С.А. Коннова

Саратов 2021

Введение. В жизни современного человека наночастицы применяются повсеместно: в косметологии, медицине, строительстве, пищевой, текстильной промышленности и многих других областях [1]. Одним из возможных применений является фотокаталитическое антимикробное воздействие – метод борьбы с микроорганизмами, который может решить проблему устойчивости бактерий к антибиотикам [2].

Повсеместное применение наночастиц ставит перед наукой много новых вопросов. Интерес вызывает безопасность применения наноматериалов, повышение их фотокаталитической активности, поиск новых методов синтеза и многое другое [3-5].

Исходя из вышесказанного, целью данной работы являлось определение антибактериальных фотокаталитических свойств новых 3D-композитов на основе алюминия и титана.

Для реализации поставленной цели в ходе работы были поставлены и решались следующие задачи:

1. Изучить влияния нанокompозитов Al_2O_3 на бактерии *Staphylococcus aureus* 209 P без доступа света.
2. Проанализировать чувствительность клеток *S. aureus* 209 P к действию фиолетового (405 нм, 70 мВт/см²) светодиодного излучения.
3. Оценить эффективность комплексного фотодинамического воздействия с использованием нанокompозитов Al_2O_3 и фиолетового (405 нм, 70 мВт/см²) светодиодного излучения на *S. aureus* 209 P.
4. Выявить изменения фотокаталитической активности нанокompозитов Al_2O_3 при легировании их наночастицами TiO_2 в различных концентрациях.

В качестве бактериальных штаммов использовали музейный штамм *S. aureus* 209 P, полученный из коллекции культур (ГИСК, Москва, Россия). Использовали 24-х часовые культуры выращивали на универсальной плотной питательной среде (ГРМ-агар, Обнинск, Россия) при 37° С. В качестве источника оптического излучения был выбран светодиод с максимальной длиной волны 405 нм, шириной полосы 20 нм и плотностью мощности 17

мВт/см². 3D композитные наноструктуры были произведены в НИИ им. Фрумкина по оригинальной технологии и представляли собой сетку из нанофибрилл. Тестировались НК α -, γ - и θ -модификаций Al_2O_3 , легированные TiO_2 в количестве 0,15 моль/л, 0,30 моль/л и 0,45 моль/л.

Во время исследования цитотоксичности композитов, бактериальную суспензию микроорганизмов объемом добавляли в лунки полистирольного планшета, в которую уже были помещены исследуемые материалы оставляли в темноте на 30 мин. Для тестирования фотокаталитической активности проинкубированные таким образом суспензии подвергали облучению в течение 5, 10, 15 и 30 мин. Облученные и необлученные суспензии помещали в лунки микропланшета для дальнейшего инкубирования. Учет результатов осуществляли путем измерения оптической плотности бактерий на планшетном фотометре iMark через 24-48 ч после инкубации при 37°C

В качестве контроля принимали оптическую плотность суспензии, не подвергавшейся облучению и не обработанной НК. Все эксперименты проводились с десятикратной повторностью. Изменение численности бактерий вычисляли отношением оптической плотности бактериальной суспензии после обработки к отношению оптической плотности контроля. Обработка полученных данных проводилась в программе Statistica 10 при использовании р-критерия.

Бакалаврская работа состоит из введения, 3 глав основной части (обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение), заключения, выводов и списка использованных источников. Обзор литературы написан на основе анализа 40 источников, в нем рассмотрены следующие вопросы: механизмы фотокаталитических реакций, оксид алюминия в фотокатализе, диоксид титана в фотокатализе, современные методы синтеза наночастиц, наноматериалы с иерархической организацией структуры, механизмы дезактивации микроорганизмов, факторы, влияющие на эффективность дезинфекции, внутрибольничные штаммы *S. aureus*.

Основное содержание работы. Новые 3D композиты показали себя как нетоксичный материал. Наиболее токсичными оказались композиты с содержанием γ - Al_2O_3 . Чистый оксид алюминия показал снижение роста микроорганизмов до 72% при максимальном времени воздействия, тогда как при 30 минутах инкубации этот показатель составлял 15%. Легирование TiO_2 увеличивает данный показатель лишь при его содержании 0,15 моль/л: снижение бактериального роста достигает 97% при максимальном времени инкубации. Для содержания TiO_2 повышения токсичности в сравнении с чистым Al_2O_3 не наблюдается и достигает 55% и 31% для содержания TiO_2 0,30 моль/л и 0,45 моль/л соответственно.

Менее токсичными оказались композиты, в составе которых был α - Al_2O_3 . Чистый оксид алюминия способствовал снижению бактериального роста всего на 21% при 150-ти минутах инкубации, что говорит о низкой токсичности материала. Легирование диоксидом титана увеличивает эти показатели. Эффективными показали себя композиты с содержанием TiO_2 0,30 моль/л: еще при 30-ти минутах инкубации они снизили численность бактерий на 27%, а при максимальном времени воздействия этот показатель достиг 84%. Значительного подавления бактериального роста удалось добиться при воздействии НК с содержанием TiO_2 0,15 моль/л и 0,45 моль/л: 67% и 68% соответственно.

Схожие результаты были получены при тестировании композитов θ - Al_2O_3 . Чистый оксид алюминия снизил численность бактерий на 41% при 60-ти минутах инкубации, при максимальном времени воздействия этот показатель составил 34%. Легирование TiO_2 значительно увеличивает показатель лишь при его содержании 0,30 моль/л: снижение роста микроорганизмов достигло 84%. При легировании TiO_2 в количестве 0,15 моль/л и 0,45 моль/л достигает 41% и 35% соответственно.

Значительное снижение бактериального роста наблюдалось со 120 минут инкубации для модификаций γ и α , и с 60 для θ -модификации.

Для достоверности оценки фотокаталитической активности НК требовалось проверить чувствительность исследуемых микроорганизмов только к фиолетовому свету (405нм). Было показано, что снижение бактериального роста *S. aureus* при 15-ти минутах облучения составляет 25%, а при 30-ти минутах достигает 31%. Чувствительность микроорганизмов к излучению длиной волны 405нм можно объяснить наличием в их клетках порфиринов, область поглощения которых лежит в диапазоне 400-415нм. Облучение светом данной длины волны с плотностью мощность 100нм обеспечивает бактерицидное действие, тогда как воздействие светом плотностью мощности 17-30 мВт/см² обеспечивает подавление не более чем на 30%. Поэтому снижение плотности мощности позволяет активировать фотокаталитические процессы, не оказывая существенного повреждающего эффекта на микроорганизмы.

Тестирование фотокаталитической активности НК показало их высокую активность. Наиболее эффективными оказались композиты с содержанием γ -Al₂O₃. Чистый оксид алюминия снизил оптическую рост микроорганизмов до 89% при максимальном времени воздействия. Воздействием в течение 5-ти минут не удалось добиться значительного снижения численности микроорганизмов, рост бактерий снизился на 43%. Увеличение времени облучения заметно увеличивает этот показатель: до 76% уже при 10-ти минутах воздействия. Максимальной активности удалось добиться уже при 15-ти минутах инкубации, рост бактерий снизился до 89%, что является максимальным показателем для данного материала.

Допирование TiO₂ в количестве 0,15 моль/л способствует повышению фотокаталитической активности материала: при максимальном времени воздействия рост бактерий снижается до 99%. Также стоит отметить, что значительное снижение наблюдается при минимальном времени воздействия и составляет 87%. Повышение фотокаталитической активности также прямо пропорционально времени воздействия и при 5-ти и 10-ти минутах инкубации снижение численности микроорганизмов достигло 87%, при

увеличении времени инкубации до 15-минут этот показатель увеличивается до 91%.

Также фотокаталитическая активность материала увеличилась при легировании Al_2O_3 диоксидом титана в количестве 0,30 моль/л. Значительное снижение роста бактерий было достигнуто уже при 5-ти минутах инкубации: до 83%. Увеличение времени инкубации незначительно повышает этот показатель до 84% при 10-ти и 15-ти минутах воздействия. Подавить рост бактерий на 92% удалось при максимальном времени воздействия, что говорит об эффективности композитов с данным составом.

Наименее эффективным оказались композиты с содержанием TiO_2 0,45 моль/л. При 10-ТИ минутах воздействия численность микроорганизмов снизилась всего на 31%. Значительное снижение роста бактерий (более 50%) наблюдалось, начиная с 10-ти минут инкубации: 59%. Максимального снижения бактериального роста достигнуть еще при 15-ти минутах инкубации (69%) и дальнейшее увеличение времени инкубации не привело к увеличению данного показателя.

Менее активными оказались композиты $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$. Чистый оксид алюминия подавил рост бактерий на 73% при максимальном времени воздействия, что уступает $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, однако является значительным. Значительное снижение также начинается с 5-ти минут инкубации (до 65%), а увеличение этого показателя пропорционально времени.

Легирование TiO_2 повысило антимикробные свойства материала для всех тестируемых концентраций. Содержание диоксида титана в концентрации 0,15 моль/л увеличило подавление бактериального роста до 85% при максимальном времени воздействия. Значительное численности микроорганизмов плотности начинается еще на 5-ми минутах воздействия и увеличивается пропорционально времени воздействия.

Наиболее эффективной оказалась концентрация 0,30 моль/л. На пяти минутах облучения численность микроорганизмов снизилась уже на 78%. При 10-ти минутах инкубации этот показатель достиг 86%, а при 15-ти –

89%. При максимальном времени воздействия рост бактерий удалось подавить на 93%.

Похожие результаты показали композиты с содержанием TiO_2 0,45 моль/л. Подавление бактериального роста при минимальном времени воздействия составило 76%. Увеличение времени воздействия увеличивает эти показатели: до 80% при 10-ти минутах инкубации и до 86% при 15-ти минутах инкубации. При 30-минутном воздействии снижение численности микроорганизмов достигло 92%.

Наименее эффективными показали себя композиты θ -модификации Al_2O_3 . Чистый оксид алюминия способствовал снижению численности микроорганизмов до 83% при максимальном времени воздействия. Значительный уровень подавления бактериального роста наблюдается уже с 5-ми минут инкубации и достигает 75%, тогда как увеличение времени воздействия до 15-ти улучшает этот показатель лишь на 1%.

Повышения фотокаталитической активности удалось добиться при легировании TiO_2 в концентрации 0,15 моль/л – до 86%. При облучении в течение 5-ти минут оптическая численность до 51%, что является значимым, но, тем не менее, это число значительно уступает остальным модификациям. Облучение в течение 10-ти и 15-ти минут увеличивает эти показатели до 63% и 75% соответственно.

Добавление TiO_2 в концентрации 0,30 моль/л не увеличило показатели по сравнению с чистым Al_2O_3 , однако значительного снижения численности бактерий добиться удалось: 53% при 30-ти минутах воздействия. При минимальном времени инкубации численность микроорганизмов снижается на 49%, из чего можно сделать вывод, что фотокаталитическая активность композитов с данным составом мало зависит от времени.

Похожие результаты показали композиты с концентрацией TiO_2 0,45 моль/л. Зависимость фотокаталитической активности данных композитов от времени воздействия выражено отчетливо: подавление бактериального роста увеличивается от 37% до 75% с 5-ти до 30-ти минут воздействия.

Подавление роста бактерий выше 50% наблюдалось у чистого Al_2O_3 и Al_2O_3 с добавлением 0,15 моль/л TiO_2 уже при минимальном времени воздействия, для концентраций TiO_2 0,30 моль/л и 0,45 моль/л этот показатель хуже: значительное снижение начинается с 10-ти минут воздействия и достигает 57%.

Наше исследование показывает, что новые 3D композиты $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{TiO}_2$ являются перспективным антимикробным материалом. Комбинация различных модификаций Al_2O_3 и концентраций TiO_2 позволяет добиться максимальной эффективности для тех или иных целей человека. Оптимальный состав композитов не был найден, однако выявлено, что наиболее эффективным является небольшое содержание TiO_2 (0,45 моль/л и 0,30 моль/л), а также наибольшую активность показали композиты γ и α модификаций.

Заключение. Несмотря на то, что фотокаталитические свойства Al_2O_3 мало изучены, этот материал имеет ряд преимуществ. Как показало наше исследование, при воздействии на бактериальные клетки, НК Al_2O_3 обладают достаточно низкой токсичностью, а значимое снижение роста бактерий начинается от 120-ти минут инкубации, независимо от модификации Al_2O_3 . Изменение химического состава за счет допирования TiO_2 также оказалось эффективным. В сравнении с чистым Al_2O_3 легированные композиты обладали повышенной токсичностью и фотокаталитической активностью, что является результатом сужения запрещенной зоны и созданием оптимальной рекомбинации электронов в зоне проводимости.

Фотокаталитическая активность полупроводников зависит от многих факторов, в том числе форма и химический состав. В нашей работе было показано, что иерархическая структура композитов, представленная сеткой из наноприлл, способствует значительному повышению антимикробной активности за счет оптимальной рекомбинации электронов в зоне проводимости, а также за счет предотвращения агрегации полученных структур.

Изменение химического состава за счет допирования TiO_2 также оказалось эффективным. В сравнении с чистым Al_2O_3 легированные композиты обладали повышенной токсичностью и фотокаталитической активностью, что является результатом сужения запрещенной зоны и созданием оптимальной рекомбинации электронов в зоне проводимости. Общая закономерность показывает, что наибольшее подавление бактериального роста вызвали композиты с низким содержанием TiO_2 , тогда как НК, легированные TiO_2 в количестве 0,45 моль/л оказались наименее эффективными для любой модификации Al_2O_3 .

В целом можно сказать, что полученные в ходе исследования данные открывают новые возможности использования фотокатализаторов для контролируемого численного снижения численности стафилококка. Фотокаталитическая активность созданных нанокompозитов зависит от ряда параметров и характеристик наночастиц, входящих в их состав, что открывает возможность управления их фотокаталитическими свойствами.

Выводы:

1. Показано, что новые 3D нанокompозиты $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{TiO}_2$ вызывают значительное снижение численности *S. aureus* 209 P (более 50%) начиная со 120-ти минут инкубации; наибольшую токсичность продемонстрировали композиты, содержащие γ -модификацию Al_2O_3 (31-95% снижение численности), наименьшую – композиты, содержащие θ -модификацию Al_2O_3 (35-72% снижение численности).

2. Установлено, что экспозиция 30 мин фиолетового (405 нм, 17 мВт/см²) светодиодного излучения приводит к сокращению бактериальной популяции *S. aureus* 209 P на 31%.

3. Выявлена зависимость фотокаталитической активности новых 3D нанокompозитов от модификации Al_2O_3 в их составе: максимальное сокращение численности *S. aureus* 209 P – на 89% по сравнению с контролем – отмечено при комплексном действии фиолетового (405 нм, 17 мВт/см²)

светодиодного излучения в течении 30 мин и нанокмползитов, содержащих γ -модификацию Al_2O_3 .

4. Обнаружено, что легирование нанокмползитов Al_2O_3 наночастицами TiO_2 повышает их фотокаталитическую активность, обеспечивая подавление численности *S. aureus* 209 P на 99% в сочетании с 30 мин облучением (для кмползитов $\gamma-Al_2O_3$ с содержанием TiO_2 0,15 моль/л).

Список использованных источников:

1 Nanotechnology in the real world: redeveloping the nanomaterial consumer products inventory / M.E. Vance [et al.] // Beilstein j. nanotechnol. – 2015. – V. 6. – P. 1769-1780.

2 Antimicrobial use, drug-resistant infections and COVID-19 / T.M. Rawson [et al.] // Nature reviews microbiology. – 2020. – V. 18. – P. 409-410.

3 Резистентность к антибиотикам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационаров России / Г.Л. Решедько [и др.] // Болезни и возбудители. – 2008. – Т. 10, № 2. – С. 96-112.

4 Динамика резистентности *Streptococcus pneumoniae* к антибиотикам в России за период 1999-2009 гг. (Результаты многоцентрового проспективного исследования ПеГАС) / Р. С. Козлов [и др.] // Клиническая микробиология и клиническая антимикробная химиотерапия. – 2010. – Т. 12, № 4. – С. 329-341.

5 Internalization and cytotoxicity of graphene oxide and carboxyl graphene nanoplatelets in the human hepatocellular carcinoma cell line Hep G2 / T. Lammel [et al.] // Part fibre toxicol. – 2013. – V. 10, N 1. – P. 27.