

ПОЛИМЕРНЫЕ, БИООРГАНИЧЕСКИЕ И ГИБРИДНЫЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ

УДК 544.165, 691:175:2, 691.175.5/8, 579.2

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИЭТИЛЕНТЕРЕФТАЛАТА И УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК

© 2023 г. А. Р. Калашян^{1,*}, В. Ю. Орлов¹, Н. Ю. Пухова¹

¹Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия

*E-mail: rimake76@gmail.com

Поступила в редакцию 09.02.2022 г.

После доработки 20.04.2022 г.

Принята к публикации 22.04.2022 г.

Получены образцы композитов с различным содержанием многослойных углеродных нанотрубок, немодифицированных и модифицированных карбоксильными группами. Получены данные о проявлении свойств бактерицидности и фунгицидности полимерного композитного материала на основе полиэтилентерефталата и карбоксилированных многослойных углеродных нанотрубок.

DOI: 10.56304/S1992722323020061

ВВЕДЕНИЕ

Одним из перспективных направлений развития современного полимерного материаловедения и получения структурно ориентированных материалов со специфическими свойствами является формирование композитов с использованием в качестве наполнителя наноразмерных частиц.

Введение фуллеренов, углеродных нанотрубок (УНТ) и других нанообъектов органической и неорганической природы в матрицу полимеров может приводить к получению соответствующих наполненных материалов (волокна, пленки, ткани, композиты) с новым комплексом свойств (повышенная прочность, жесткость, ударная вязкость, электро- и теплопроводность, магнетосопротивление, сверхпроводимость, сегнетоэлектрические свойства) [1–4]. Востребованность подобных систем с весьма перспективным комплексом свойств ставит проблему их взаимодействия с биообъектами как в рамках безопасности, так и в направлении поиска новых сфер применения.

Весьма привлекательным в качестве полимерной матрицы для композитов является полиэтилентерефталат (ПЭТФ) – широко распространенный и экономически выгодный (как с точки зрения стоимости, так и возможности переработки) материал. Созданию на его основе композитов, содержащих в качестве наполнителя УНТ различного строения, посвящен ряд работ [5–14]. Формирование композитных материалов на основе полиэтилентерефталата и УНТ позволяет рассчитывать на проявление комплекса свойств, повышающего эксплуатационные характери-

сти изделий на основе указанного пластика, в том числе термо- и огнестойкость, механическую прочность. Оценка биологических характеристик указанных продуктов является существенно необходимой.

Проблемой формирования подобных материалов является то, что из-за избыточной поверхностной энергии углеродные наночастицы склонны к агрегированию. Для создания однородных композитов требуется равномерное распределение углеродных объектов в объеме пластика. Однако синтезированные УНТ зачастую представляют массив плотно переплетенных объектов, агрегат размером до 3 мкм, что существенно усложняет их применение в композитах и обеспечивает неравномерность проявления поверхностных и объемных характеристик. Кроме того, включение частиц УНТ в полимерную фазу обеспечивает центры образования зародышей, что в итоге увеличивает степень кристалличности [14].

Согласно [15] простое перемешивание УНТ в расплаве полимера приводит к равномерному распределению углеродных объектов в объеме пластика при весьма высокой массовой доле УНТ в материале (более 5%). В [16] удалось добиться равномерного распределения наполнителя в полимерной матрице при содержании УНТ до 5 мас. %. Это достигалось за счет введения УНТ, предварительно функционализированных (формирование на поверхности УНТ карбоксильных групп [17]), в расплав ПЭТФ в виде водной суспензии. Использование данной технологии позволяет получать волокно на основе формируемого композита с равномерно распределенными в нем УНТ, что

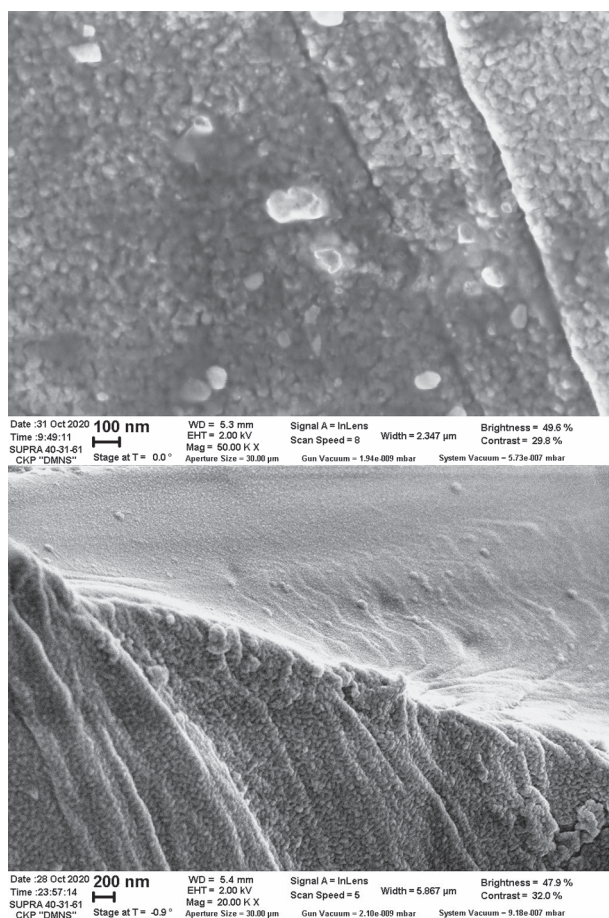


Рис. 1. Микрофотографии образцов композитов с содержанием многослойных углеродных нанотрубок, модифицированных карбоксильными группами.

обеспечивает однородность свойств материала как по поверхности, так и в объеме.

Весьма актуальными являются исследования биологической активности полученного композита, поскольку во многих случаях его использование напрямую может быть связано с его антимикробными свойствами (материалы для корпусов бытовой электроники, строительные материалы и др.). Отметим, что подобные сведения о материале на основе ПЭТФ и карбоксилированных УНТ в литературе отсутствуют. Традиционным путем обеспечения антимикробных свойств у полимерных и композитных материалов является нанесение на них токсичных для микроорганизмов добавок, преимущественно соединений серебра [18, 19]. Сведения о биологической активности самих УНТ весьма разрозненны, в некоторых случаях отмечается их стимулирующее воздействие на развитие микроорганизмов [20]. Основной принцип бактерицидного действия УНТ достигается сочетанием физических и химических механизмов [21, 22]. Физически УНТ могут быть причиной существенного структурного повреждения

клеточной стенки и мембраны микроорганизма. Кроме того, они обладают способностью биологически изолировать клетку от микроокружения, что в итоге приводит к выработке активных форм кислорода (АФК), а также подвергают клетку окислительному стрессу, ведущему к биологической смерти. Поэтому темой исследования стало изучение биологической активности полимерного композитного материала на основе ПЭТФ и карбоксилированных многослойных углеродных нанотрубок (МУНТ).

МЕТОДЫ

Образцы композитов с различным содержанием многослойных углеродных нанотрубок, немодифицированных и модифицированных карбоксильными группами (МУНТ-СООН), были получены по методикам, приведенным в [16]. Микроструктура образцов представлена на рис. 1. Следует отметить отсутствие ассоциированных МУНТ.

Карбоксилирование МУНТ осуществлялось путем взаимодействия последних с азотной кислотой. Были выбраны весьма мягкие условия проведения процесса при использовании в качестве окислителя водного раствора азотной кислоты, что позволило рассчитывать на проведение процесса только по реакционноспособным фрагментам нанотрубок. Одной из задач работы было введение сравнительно небольшого числа функциональных групп во избежание значительных изменений морфологии трубки, появления большого числа разрывов стенок.

В качестве биологических тест-объектов для исследования полученных образцов использовали чистую культуру бактерий *Escherichia coli* и плесневые грибы двух видов *Penicillium notatum* и *Aspergillus niger*.

В работе использовали суспензию бактериальных клеток в стерильном физиологическом растворе (0.85% NaCl) плотностью $(8.74 \pm 0.81) \times 10^9$ КОЕ/мл. Плотность бактериальных клеток устанавливали методом Коха при высеве на твердую питательную среду МПА (мясо-пептонный агар).

Образцы композита (диски) подвергали стерилизации в микробиологическом боксе УФ-лучами с помощью ртутно-кварцевой лампы в течение 30 мин. В качестве контроля использовали стерильные стеклянные диски.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате функционализации МУНТ отмечалось варьирование степени карбоксилирования в диапазоне от 3.03 до 13.85 ммоль кислотного фрагмента на 100 г полученного продукта. Наибольшая степень наблюдалась при ведении про-

Таблица 1. Наличие *Escherichia coli* в поверхностном слое исследуемых строительных материалов

Образец	Маркировка образцов (мас. % МУНТ в ПЭТФ)	Наличие <i>Escherichia coli</i>		
		Повторность опыта		
		1	2	3
1	МУНТ 0%	+	+	+
2	МУНТ 12.9%	–	–	–
3	МУНТ 5.9%	–	–	–
4	МУНТ-СООН 6.4%	–	–	–
5	МУНТ 1.3%	–	–	–
6	УНТ-СООН 0.88%	–	–	–

Примечание. “+” – рост есть, “–” – роста нет, МУНТ-СООН – карбоксилированные МУНТ.

Таблица 2. Количественная оценка бактерицидности композита

Образец	Маркировка образцов (мас. % МУНТ в композите)	Диаметр зоны задержки роста <i>Escherichia coli</i> вокруг дисков из строительного материала (мм)						Σ
		Повторность опыта						
		1	2	3	4	5	6	
	Стекланный диск (контроль)	0	0	0	0	0	0	0
1	МУНТ 0%	0	0	0	0	0	0	0
2	МУНТ 12.9%	10	11	11	12	10	13	11.17
3	МУНТ 5.9%	10	12	10	11	11	11	10.83
4	МУНТ-СООН 6.4%	12	12	12	13	10	14	12.17
5	МУНТ 1.3%	10	10	11	11	11	10	10.50
6	МУНТ-СООН 0.88%	11	10	10	10	12	10	10.50

цесса в течение 16 ч при температуре +60°C с использованием 55%-ного водного раствора азотной кислоты. Наименьшая степень наблюдалась при такой же длительности, но с использованием 30%-ного водного раствора азотной кислоты при температуре +40°C. Отметим, что при высших значениях изменяемых условий степени функционализации меняются незначительно, что может свидетельствовать об участии в процессе подавляющего большинства реакционных центров.

Результаты исследования по взаимодействию композита с бактериями *E. coli* представлены в табл. 1.

Учитывая результаты посевов соскобов с поверхностного слоя композитов шести исследуемых образцов, находящихся в течение 10 сут в суспензии *E. coli*, можно отметить следующее. Только один из образцов (1) адсорбирует в поверхностном слое бактерий, поскольку наблюдается рост бактерий при высеве на среду Эндо из всех разведений (10^{-1} – 10^{-5}). Остальные пять образцов, учитывая трехкратную повторность проведенного эксперимента и отсутствие на среде

бактериальных колоний, обладают бактерицидным действием по отношению к *E. coli*.

Было проведено определение количественной характеристики бактерицидности композита. Результаты исследования представлены в табл. 2.

Согласно полученным данным образец 1 (ПЭТФ) не обладает бактерицидными свойствами. Более того, рост бактерий *E. coli* отмечался на среде МПА не только в непосредственной близости к диску, но и под ним. Такие же данные получены для стеклянных дисков, используемых в работе в качестве микробиологического контроля. Отсутствие зоны задержки роста кишечной палочки вокруг дисков свидетельствует о том, что данный образец не обладает бактерицидным действием.

Зона задержки роста вокруг дисков с композитными материалами (образцы 2–6) варьирует в диапазоне от 10.5 до 12.17 мм (брали средние значения по данному показателю). Отметим, что рост бактерий не был отмечен ни на поверхности дисков строительных материалов образцов 2–6, ни на питательной среде непосредственно под ними. Данные факты свидетельствуют о бактерицидности исследуемых образцов по отношению к

Таблица 3. Наличие *Penicillium notatum* и *Aspergillus niger* в смывах с образцов композитов

Образец	Маркировка образцов (мас. % МУНТ в композите)	Наличие <i>Penicillium notatum</i>			Наличие <i>Aspergillus niger</i>		
		Повторность опыта			Повторность опыта		
		1	2	3	1	2	3
1	МУНТ 0%	+	+	–	+	+	+
2	МУНТ 12.9%	–	–	–	+	–	–
3	МУНТ 5.9%	+	–	–	+	+	–
4	МУНТ-СООН 6.4%	–	–	–	+	+	–
5	МУНТ 1.3%	+	–	–	+	+	+
6	МУНТ-СООН 0.88%	+	–	–	+	+	+

E. coli, так как в ходе работы диски с образцами укладываются на среду, на поверхность которой уже равномерно нанесена суспензия используемого микроорганизма. Неспособность *E. coli* развиваться под диском и в непосредственной близости от него – доказательство наличия бактерицидных свойств исследуемых композитных материалов. Максимальный диаметр зоны задержки роста кишечной палочки (12.7 мм) отмечен для образца 4 (УНТ-СООН 6.4%).

Заражение композитов плесневыми грибами проводили путем их полного погружения на 2 мин в пробирки с суспензией конидий грибов. Инфицированные плесневыми грибами образцы помещали в стерильные чашки Петри с асептически увлажненной стерильной фильтровальной бумагой. Чашки Петри с образцами помещали затем в стерильные эксикаторы, герметично закрывали крышками и оставляли при комнатной температуре в течение одного месяца.

По истечении срока инкубации образцы извлекали с соблюдением стерильности и подвергали анализу. Для этого в асептических условиях микробиологического бокса образцы измельчали. Измельченную массу разделяли на две части. Из первой части брали навеску и помещали в стерильный стакан со средой Чапека, суспензию взбалтывали в течение 10 с, полученный образец (смыв с поверхности измельченных частиц) высеивали на среду Чапека. Результаты исследования фунгицидной активности образцов композитов представлены в табл. 3.

По исследованию *P. notatum* образцы 2 (МУНТ 12.9%) и 4 (МУНТ-СООН 6.4%) обладают фунгицидностью по отношению к *P. notatum*. В смывах с образцов 3, 5 и 6 рост грибов встретился в одном из трех вариантов посевов; в смывах с образца 1 – в двух из трех вариантов.

Несколько иные результаты получены в случае с тест-объектом *A. niger*. В смывах всех образцов строительного материала обнаружен рост гриба, но только для образца 2 (МУНТ 12.9%) рост аспергилла отмечен единожды, для образцов 3 и 4 – в двух

вариантах посевов из трех, а в смывах с образцов 1, 5 и 6 – во всех вариантах. Таким образом, *A. niger* является более устойчивым к выживанию на поверхности исследуемых строительных материалов, чем *P. notatum*.

В соответствии с полученными результатами и данными [20] функционализированные нанотрубки не выделяют в водную среду каких-либо токсичных веществ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявлены бактерицидность и фунгицидность композитного материала на основе ПЭТФ и многослойных углеродных нанотрубок. При этом сам полимер не проявлял подобных свойств, а для углеродных нанотрубок отмечалась даже стимуляция роста бактерий. Данный эффект не связан с выделением в окружающую среду каких-либо токсичных веществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Li X., Jia W., Dong B. et al. // *Polymers*. 2019. V. 11 (8). P. 1294. <https://doi.org/10.3390/polym11081294>
- Mittal G., Dhand V., Rhee K.Y. et al. // *J. Ind. Eng. Chem.* 2015. V. 21. P. 11. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2014.03.022>
- Al-Harathi M.A., Bahuleyan B.K. // *Adv. Mater. Sci. Eng.* 2018. P. 1. <https://doi.org/10.1155/2018/4057282>
- Ulfa A.S., Wulan P.P.D.K. // *International conference on trends in material science and inventive materials: ictmim*. 2020. <https://doi.org/10.1063/5.0013979>
- May-Pat A., Avilés F., Toro P. et al. // *eXPRESS Polym. Lett.* 2012. V. 6. № 2. P. 96.
- Wrking D., Siochi E., Park C. et al. Mechanically strong, thermally stable and electrically conductive nanocomposite structure and method of fabricating same. Patent 20060235136 (USA), 2006.
- Kim J.Y., Park H.S., Kim S.H. // *J. Appl. Polym. Sci.* 2007. V. 103. P. 1450.

8. *Alexiou V.F., Mathioudakis G.N., Andrikopoulos K.S. et al.* // *Polymers*. 2020. V. 12(11). P. 2626. <https://doi.org/10.3390/polym12112626>
9. *Chowreddy R.R., Nord-Varhaug K., Rapp F.* // *J. Mater. Sci.* 2018. V. 53 (9). P. 7017. <https://doi.org/10.1007/s10853-018-2014-0>
10. *Fang C., Yang R., Zhang Z. et al.* // *RSC Adv*. 2018. V. 8 (16). P. 8920. <https://doi.org/10.1039/c7ra13634j>
11. *Khalaf E.M., Awad S.A.* // *Int. J. Mat. Sci. Appl.* 2016. V. 5. № 6. P. 297. <https://doi.org/10.11648/j.ijmsa.20160506.20>
12. *Nuzul F.I., Safiyyah A.Z., Chantara T.R. et al.* // *J. Nanomaterials*. 2021. V. 2021. P. 9. <https://doi.org/10.1155/2021/6633604>
13. *Zicans J., Bitenieks J., Ivanova T. et al.* // *AIP Conf. Proc.* 2018. <https://doi.org/10.1063/1.5046019>
14. *Alexiou V.F., Mathioudakis G.N., Andrikopoulos K.S. et al.* // *Polymers*. 2020. V. 12 (11). P. 2626. <https://doi.org/10.3390/polym12112626>
15. *Tzavalas S., Mouzakis D., Drakonakis V., Gregoriou V.G.* // *J. Polym. Sci. B*. 2008. V. 46. P. 668. <https://doi.org/10.1002/polb.21378>
16. *Петрунин С.Ю., Ваганов В.Е., Захаров В.Д. и др.* Способ получения термостабильного нанокompозитного полиэтилентерефталатного волокна. Пат. 2534251 (Россия). 2014.
17. *Шиббаев Д.А., Орлов В.Ю., Ваганов В.Е.* // *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2011. Т. 54. № 7. С. 38.
18. *Замыслов Э.В., Бизяев Н.А.* Полимерная бактерицидная композиция (варианты). Пат. 2318846 (Россия), 2008.
19. *Вишнякова Е.А., Селютина Г.Е., Гаврилова Ю.Ю. и др.* // *Журнал сибирского федерального университета. Серия "Химия"*. 2013. Т. 4. С. 372.
20. *Нечаева О.В.* Автореф. дис. "Характеристика биологического действия полимерных и гетероциклических соединений, углеродных нанотрубок на микроорганизмы и разработка технологии создания на их основе инновационных препаратов". ... докт. биол. наук (03.02.03 – микробиология). Саратов, 2013. С. 257.
21. *Ji H., Sun H., Qu X.* // *Adv. Drug Delivery Rev.* 2016. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.009>
22. *Sahar E.A-N., Hussein A.M., Emad M.E.* *IET Nanobiotechnology*. 2020. V. 14 (6). P. 457. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2019.0342>