

ЗАВИСИМОСТЬ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НАНОДИСПЕРСИЙ ОКСИДА ЦИНКА ОТ ФОРМЫ И РАЗМЕРА ЧАСТИЦ

© Г. Т. Мазитова*, К. И. Киенская, И. А. Буторова**

Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева,
125047, г. Москва, Миусская пл., д. 9
E-mail: *mazi-tova@mail.ru; **colloid@muctr.ru

Поступила в Редакцию 5 августа 2019 г.

После доработки 4 декабря 2019 г.

Принята к публикации 4 декабря 2019 г.

Синтезированы нанодисперсии оксида цинка с клиновидной и стержнеобразной формой частиц, определены их основные коллоидно-химические характеристики и антимикробные свойства. Установлено, что наночастицы стержнеобразной формы обладают более высокой антимикробной активностью в отношении ряда тест-микроорганизмов. Полученные результаты исследования могут быть использованы для создания моющих средств с антибактериальным действием.

Ключевые слова: наночастицы; оксид цинка; антимикробная и антибактериальная активность
DOI: 10.31857/S0044461820060079

Повышение устойчивости микроорганизмов к антибактериальным препаратам является тревожным знаком для широкого круга специалистов — врачей, косметологов, биологов, а также работников пищевой и фармацевтической промышленности. Это стимулирует поиск новых препаратов широкого спектра действия. Перспективным и быстро развивающимся направлением является разработка препаратов на основе высокодисперсных систем. Это, с одной стороны, открывает новые возможности для создания препаратов нового поколения, с другой — появляются дополнительные вопросы, требующие тщательного изучения, в частности, влияния препаратов, содержащих наночастицы, на живые организмы [1].

В отличие от хорошо исследованных дисперсий металлических наночастиц серебра и золота, проявляющих высокую антимикробную активность, наноконпозиции оксидных систем, например оксида цинка, изучены недостаточно. Несмотря на то что антибактериальные свойства ZnO обнаружены давно, в литературе практически отсутствуют данные о зависимости антимикробных свойств от формы и размера частиц ZnO.

Цель работы заключалась в выявлении зависимости антимикробной активности нанодисперсий оксида цинка от формы и размера частиц, содержащихся в дисперсных системах.

Экспериментальная часть

Нанодисперсии частиц ZnO клиновидной формы получали гидролизом нитрата цинка; нанодисперсии ZnO стержнеобразной формы — методом осаждения нитрата цинка [2]. Для стабилизации нанодисперсий использовали катионные поверхностно-активные вещества — *цис*-ди-*n*-бутил-(2-(5-хлор-2-гидроксибензил)-2-фенилвинил)-фенилфосфонийхлорид (ПАВ 1), синтезированный в ИОФХ им. А. Е. Арбузова (г. Казань) по методике [3], и 1,2-этилен-бис-(*N,N*-диметилкарбдecilоксиметил)аммония дихлорид (ПАВ 2), синтезированный в Институте органической химии НАН Украины (г. Киев).

Измерения поверхностного и межфазного натяжения растворов поверхностно-активных веществ проводили на тензиометре Krus (Германия) методом висячей капли по стандартной методике. Форму и размер наночастиц определяли с использованием сканирующей электронной микроскопии. Антимикробную активность наночастиц ZnO оценивали диско-диффузионным методом по величине зоны отсутствия роста тест-организмов на твердых питательных средах.

Фазовый состав частиц дисперсной фазы устанавливали с помощью рентгенофазового анализа (расшифровка проводилась с использованием картотеки

JCPDS). Концентрацию дисперсной фазы определяли термогравиметрическим анализом.

Содержание ионов цинка в дисперсионной среде контролировали кондуктометрическим анализом пермиата, полученного концентрированием нанодисперсий на полисульфоновой мембране (УПМ-20, ЗАО НТЦ «Владипор» с минимальной производительностью по дистиллированной воде $0.60 \text{ дм}^3 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{ч}^{-1}$ и рабочим диапазоном pH 2–12).

В качестве тест-культур использовали следующие штаммы микроорганизмов: *Staphylococcus aureus subs. aureus* FDA 209P, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 885-653, *Bacillus subtilis* ВКПМ В-13183, *Pseudomonas aeruginosa* ВКПМ В-8243.

Приготовление инокулята тест-культур микроорганизмов проводили путем смыва предварительно выращенных микроорганизмов физиологическим раствором, доводя плотность суспензии стерильным физиологическим раствором до концентрации клеток $1.5 \cdot 10^8 \text{ КОЕ} \cdot \text{мл}^{-1}$, сравнивая ее с соответствующим стандартом мутности по шкале Мак-Фарланда.

Для определения антимикробной активности подготовленные суспензии тест-организмов в количестве 0.1 мл вносили в чашки Петри на поверхность плотной питательной среды и равномерно распределяли по поверхности стерильным шпателем Дригальского. Диски готовили из стерильной фильтровальной бумаги диаметром 0.6 см, пропитывали образцами и накладывали на поверхность питательной среды с посеянными тест-культурами. Для обеспечения диффузии активных компонентов образцов в питательную среду чашки Петри оставляли на 1 ч при комнатной температуре, затем помещали в термостат и инкубировали при температуре 37°C в течение 24 ч. После инкубации в термостате измеряли зоны угнетения роста тест-культур микроорганизмов.

Оценку воздействия нанодисперсий ZnO на макроорганизмы проводили по выживаемости пресноводных ракообразных тест-организмов *Daphnia magna Straus*. Критерием токсического действия высокодисперсных систем служила гибель 50% и более биотест-объекта за 48 ч в исследуемой пробе по сравнению с контрольным образцом, в котором все *Daphnia magna Straus* сохраняли жизнеспособность. Для исследований использовали дафнии в возрасте 6–24 ч. Опытные и контрольные стаканы с дафниями оставляли на 96 ч при комнатной температуре. Регистрацию выживаемости пресноводных ракообразных тест-организмов *Daphnia magna Straus* в анализируемых пробах относительно контроля проводили каждые 24 ч.

Обсуждение результатов

Расшифровка рентгенограммы (рис. 1) с использованием картотеки JCPDS позволила утверждать, что фазовый состав частиц дисперсной фазы представлен ZnO модификации вюрцит. Аналогичные результаты были получены для дисперсии со стержнеобразными частицами.

Независимо от способа получения нанодисперсий частицы дисперсной фазы представляют собой ZnO (табл. 1) различной формы (рис. 2), однако концентрация дисперсий невелика, что предполагает использование стабилизатора.

В качестве стабилизаторов нанодисперсий ZnO были выбраны азот- и фосфорсодержащие поверхностно-активные вещества. Выбор катионных ПАВ, содержащих атомы азота и (или) фосфора, обусловлен их антисептическими свойствами и биологической активностью [4]. Присутствие этих соединений в нанодисперсиях ZnO может привести к проявлению синергического эффекта и повышению антимикробной активности.

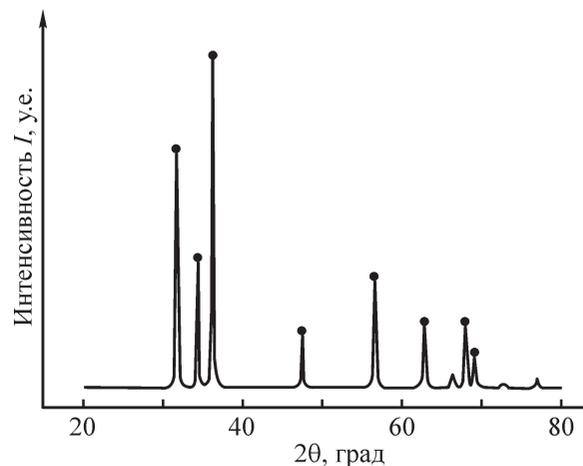


Рис. 1. Рентгенограмма порошка, полученного сушкой золя ZnO при 25°C .

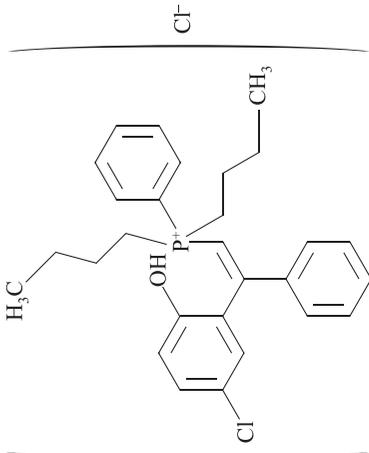
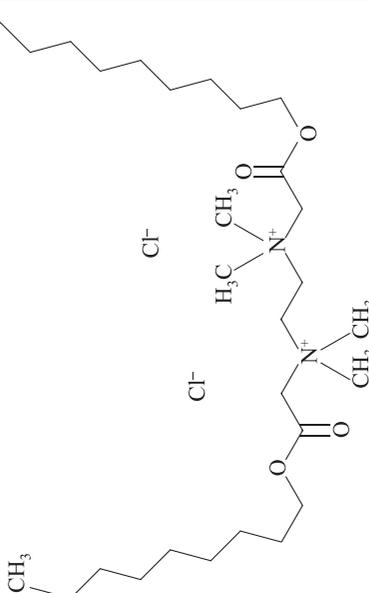
Таблица 1

Основные характеристики синтезированных нанодисперсий ZnO

Характеристика	Форма частиц дисперсной фазы	
	стержнеобразная	клиновидная
Фазовый состав	ZnO	ZnO (вюрцит)
Концентрация, мас%	0.015–0.10	0.030–0.30
ζ-Потенциал, мВ	2–3	9
Размер частиц d , нм	50–60	60–70

Таблица 2

Коллоидно-химические свойства водных растворов поверхностно-активных веществ

Образец	Граница раздела раствор–воздух			Граница раздела жидкость–жидкость (водный раствор ПАВ–додекан)			
	поверхностная активность $g, \text{мДж} \cdot \text{м}^{-1}$	ККМ, $\text{ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$	площадь, приходящаяся на полярную группу молекулы ПАВ в насыщенном адсорбционном слое, $S_0, \text{нм}^2$	толщина адсорбционного слоя $\delta, \text{нм}$	поверхностная активность $g, \text{мДж} \cdot \text{м}^{-1}$	площадь, приходящаяся на полярную группу молекулы ПАВ в насыщенном адсорбционном слое, $S_0, \text{нм}^2$	толщина адсорбционного слоя $\delta, \text{нм}$
<p>ПАВ 1</p>  <p>ПАВ 2</p> 	0.37	0.45	0.56	2.0	0.50	0.58	1.4
	0.70	0.20	0.23	4.2	0.70	0.36	2.7

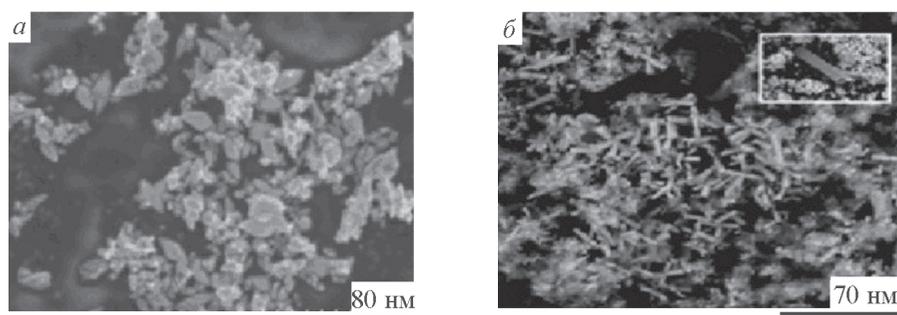


Рис. 2. Изображения высокодисперсных частиц ZnO клиновидной (а) и стержнеобразной формы (б), полученные методом сканирующей электронной микроскопии.

Для стабилизации нанодисперсий использовали растворы ПАВ с концентрациями, равными критической концентрации мицеллообразования (ККМ). Величины ККМ определяли по изотермам поверхностного натяжения, начальные участки которых обрабатывали по уравнению Шишковского (табл. 2). Для сопоставления адсорбционных характеристик растворов поверхностно-активных веществ исследования проводили на двух границах раздела фаз: раствор–воздух и жидкость–жидкость.

Полученные для исследованных ПАВ экспериментальные значения поверхностной активности на обеих границах раздела фаз делают возможным использование их в качестве эффективных стабилизаторов (табл. 2). Большая величина площади, приходящаяся на полярную группу молекулы ПАВ 1 в насыщенном адсорбционном слое, обусловлена, по-видимому, стерическими затруднениями объемной молекулы.

Для выявления антимикробного действия были исследованы растворы ПАВ (при концентрациях, равных ККМ), нанодисперсии ZnO с клиновидными частицами (НД 1), со стержнеобразными частицами (НД 2), а также такие же нанодисперсии, стабилизированные растворами ПАВ. В качестве сравнения была выбрана грубодисперсная суспензия (ГС)

ZnO со сферическими частицами размером 50 нм. Стабилизация нанодисперсий ZnO растворами ПАВ позволяет получать системы с максимальной концентрацией 0.5 мас%. Содержание частиц ZnO во всех исследуемых дисперсиях поддерживалось постоянным и составляло 0.1 мас%.

В ходе исследования было установлено (табл. 3), что водный раствор ПАВ 1 проявил антимикробную активность в отношении бактерий *S. aureus*, *B. subtilis* и дрожжей *C. albicans*; раствор ПАВ 2 — в отношении всех исследуемых тест-штаммов бактерий и не проявил активность в отношении *C. albicans*. Грубодисперсная система, содержащая сферические частицы микрометрового размера, не обладает антимикробной активностью по сравнению со всеми остальными исследуемыми системами. Нанодисперсия с клиновидными наночастицами ZnO оказала ингибирующее действие только на рост *B. subtilis*, а нанодисперсия со стержнеобразными частицами ZnO была активна в отношении *B. subtilis* и *S. aureus*.

Стабилизация нанодисперсии 1 растворами ПАВ 1 и ПАВ 2 увеличила антимикробный эффект системы в отношении *B. subtilis*. Нанодисперсия 2, стабилизированная ПАВ 1, не проявила антимикробного

Таблица 3

Размер зоны ингибирования роста тест-организмов

Тест-организм	Размер зоны ингибирования, мм, для исследованных систем*								
	ПАВ 1	ПАВ 2	НД 1	НД 2	НД 1 + ПАВ 1	НД 1 + ПАВ 2	НД 2 + ПАВ 1	НД 2 + ПАВ 2	ГС
<i>S. aureus</i>	15–20	10–12	—	15–20	—	—	—	—	—
<i>P. aeruginosa</i>	—	10–12	5	—	—	—	—	—	—
<i>E. coli</i>	—	7–10	—	—	—	—	—	—	—
<i>B. subtilis</i>	20	7–12	10	10–11	10–15	15–20	—	10–20	5
<i>C. albicans</i>	10–12	—	—	—	—	—	—	—	—

* Концентрации ПАВ как в индивидуальных растворах, так и в композициях соответствуют величинам ККМ.

действия в отношении всех исследуемых тест-организмов. Можно предположить, что стержнеобразные частицы и молекулы фосфорсодержащего ПАВ действуют как антагонисты, и в полученном сочетании их активность подавляется.

У нанодисперсии НД 2, стабилизированной ПАВ 2, было обнаружено усиление антимикробного действия в отношении *B. subtilis* и уменьшение антимикробного действия в отношении *S. aureus*. Кроме того, стабилизированная система НД 2 проявила антимикробное действие в отношении *P. aeruginosa*.

Исследование воздействия нанодисперсий ZnO на тест-организм *Daphnia magna Straus* показало, что во всех опытных образцах в течение 96 ч выживаемость пресноводных ракообразных *Daphnia magna Straus* составила 80%, что является показателем низкой токсичности.

Выводы

В ходе проведенных исследований установлено, что высокодисперсные частицы ZnO диаметром 50–70 нм проявляют более высокую антимикробную активность по сравнению с грубодисперсным образцом с диаметром частиц ZnO 50 мкм. Наночастицы ZnO стержнеобразной формы обладают антимикробной активностью более широкого спектра действия в отличие от наночастиц ZnO клиновидной формы. Введение катионных ПАВ в нанодисперсии ZnO приводит как к повышению, так и снижению антимикробной активности стабилизированных систем в зависимости от вида тест-организма.

Благодарности

Авторы выражают глубокую благодарность д.х.н. В. Ф. Миронову (Институт органической и физической химии имени А. Е. Арбузова) за предоставление образца поверхностно-активного вещества *цис*-ди-*n*-бутил-(2-(5-хлор-2-гидроксифенил)-2-фенилвинил)-фенилфосфонийхлорида.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Информация об авторах

Мазитова Гульнара Тагировна,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1718-8348>
Киенская Карина Игоревна, к.х.н., доцент,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1948-5824>
Буторова Ирина Анатольевна, к.б.н.,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1958-1680>

Список литературы

- [1] Бовина Е. М., Романов Б. К., Казаков А. С., Вельц Н. Ю., Журавлева Е. О., Букатина Т. М., Аляутдин Р. Н., Меркулов В. А. Наноразмерные лекарственные средства: особенности оценки безопасности // Безопасность и риск фармакотерапии. 2019. Т. 7. № 3. С. 127–138. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2019-7-3-127-138>
- [2] Кузовкова А. А., Большаков А. П., Калмыков А. Г., Яровая О. В., Киенская К. И., Авраменко Г. В., Назаров В. В., Хорошилов А. В. Влияние условий синтеза на свойства гидрозоля оксида цинка // Хим. технология. 2012. Т. 13. № 5. С. 268–272.
- [3] Tatarinov D. A., Kuznetsov D. M., Voloshina A. D., Lyubina A. P., Strobykina A. S., Mukhitova F. K., Polyancev F. M., Mironov V. F. Synthesis of 2-(2-hydroxyaryl)alkenylphosphonium salts from phosphine oxides via ring-closing ring-opening approach and their antimicrobial evaluation // Tetrahedron. 2016. V. 72. P. 8493–8501. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.11.023>
- [4] Вагапова Г. И., Валеева Ф. Г., Ибрагимова А. Р., Гайнанова Г. А., Захарова Л. Я., Сякаев В. В., Галкин И. В., Тундрий Е. В., Романов А. О. Амфифильные алкилтрифенилфосфоний бромиды: агрегационные свойства и каталитическая активность // XIV Молодежная конференция по органической химии. Екатеринбург, 2011. С. 54–56.