



**Конкурс для школьников «Гениальные мысли»
Автореферат проекта призера II степени среди 10 классов**

Название работы – Инновационное антибактериальное нанопокрытие.

Автор – Банков Александр Александрович (10 класс, ГАОУ ТО "ФМШ", г. Тюмень).

Руководитель – Тарасов Олег Александрович, учитель физики, астрономии и технологии, ГАОУ ТО "ФМШ", г. Тюмень.

Основная идея работы, цели, задачи

Всем нам известны разные способы борьбы с бактериями, однако, не все из них являются долговечным и эффективными. Основной идеей работы было сочетать периодический рельеф подложки и антибактериальные вещества.

Целью работы является создание комбинированных антибактериальных нанопокровов, совмещающих в себе механически и химически способы воздействия на бактерии.

Задачи:

- проанализировать источники литературы,
- приобрести навыки работы на Наноедюкаторе-II и установке по напылению покрытий,
- создать необходимый рельеф подложки,
- провести апробацию предложенного метода фиксации антибактериальных веществ,
- протестировать покрытия на различных штаммах бактерий.

Актуальность и новизна работы

Существующие технологии борьбы с бактериями основываются в большинстве своем на использовании лишь антибактериальных свойств самих веществ, в то время как воздействовать на бактерии можно механически под влиянием физических сил, оказываемых структурой самой поверхности [2]. В сравнении с использованием только антибактериальных веществ объединение структурного (механическое воздействие) и химического (антибактериальное воздействие) способов позволяет повысить эффективность борьбы с бактериями.

Новые типы нанопокровов, способных противодействовать бактериям высоко востребованы в различных отраслях медицины (создание биосовместимых имплантов и катетеров), в кораблестроении (защита подводной части техники), в сфере ЖКХ (снижение биообрастания и засорения внутренних поверхностей труб).

В настоящее время известны следующие новые способы борьбы с бактериями с использованием нанотехнологий: использование игольчатых структур, структурирование подложек методом абляции, гидрофобные покрытия [4], использование наночастиц антибактериальных материалов Zn, Cu, Au, A и т. п., а также оксидов металлов ZnO [3], CuO, Au₂O₃, TiO₂ и т. п.

Основные результаты

Последнее десятилетие такой замечательный инструмент исследователя, как зондовый сканирующий микроскоп (ЗСМ) стал более доступен. Благодаря высокому разрешению в диапазоне от микронных, до субмикронных и нано-размеров открываются широкие возможности для изучения тонкой структуры биологических объектов, не видимой в оптический микроскоп. Единственной альтернативой в нано- и субмикро-диапазоне является электронный сканирующий микроскоп ЭСМ, но он примерно в 60 раз дороже, чем ЗСМ. Единственным его преимуществами по сравнению с ЗСМ является быстрота работы. Если ЗСМ строит изображение размером 100×100 мкм в приемлемом качестве за один час, то ЭСМ делает это за минуту. Однако ЗСМ позволяет не только построить контуры изображения, но определить в каждой точке другие параметры объекта, например, намагниченность, жесткость, электропроводность. При этом воздействие зонда (иглы) на объект в полу-контактном режиме не приводит к его повреждению, что особенно важно для нежных биологических объектов. Кроме того, благодаря определению локальной жесткости, можно "почувствовать" внутреннее строение биологического объекта без его препарации.

Особенно интересно использовать ЗСМ для исследования бактерий, поскольку их размер (0,5-10 мкм) меньше типичного поля зрения этого микроскопа и можно изучить одновременно десятки и тысячи бактерий в одинаковых условиях [5]. При воздействии каких-либо факторов на бактерии, мы будем получать высоко достоверные (статистически обоснованные) результаты этого воздействия, связанные как с изменением размеров бактерий, так и физических свойств их мембран (жесткость, шероховатость) [1].

Эволюционно все живые организмы привыкли приспосабливаться к окружающей среде и внешним раздражителям, а современное человечество всё чаще сталкивается с тем, что бактерии и прочие микроорганизмы поколение за поколением вырабатывают терпимость к различным видам антибактериальных веществ. Остро стоит вопрос создания новых эффективных комбинированных методов для борьбы с бактериями в повседневной жизни, а также клинической применимости существующих технологий, противодействующих бактериям в конкретных случаях [1].

Для создания комбинированных антибактериальных покрытий мы решили объединить структурное (механическое) и химическое (антибактериальное) воздействие, тем самым сделать покрытия эффективнее. Механическое воздействие оказывается за счет специфического рельефа поверхности, который будет контактировать с бактериями с двух сторон, а не с одной, рис. 1 и 2.



Рис.1. Бактерии на рельефном покрытии



Рис.2. Бактерии на классическом ровном покрытии

Для выбора подходящего покрытия мы создавали слепки с различных TGZ решеток компании NT-MDT размером 5×5×0,5 мм³. Рельеф данных решеток был прямоугольным с периодом 3 ± 0,01 мкм и высотой 21,5 ± 1,5 нм, 107 ± 2 нм, 560 ± 2,6 нм. Материалом

слепков служил этиленвинилацетат, который при нагревании до температуры плавления заливали на TGZ решетки и придавливали прессом.

После полученные слепки помещали в зондовый сканирующий микроскоп. В результате сканирования было замечено, что рельеф получается сглаженным (рис. 3) и более вытянутым (рис. 4) за счёт текучести материала при растягивании.

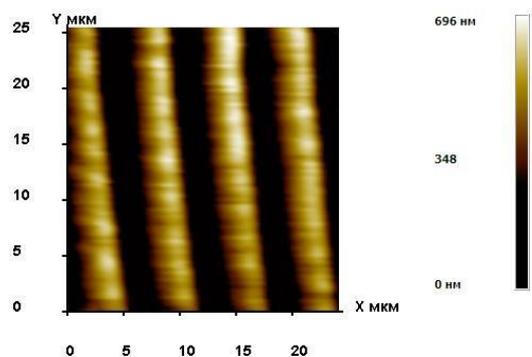


Рис.3. Изображение слепка в ЗСМ

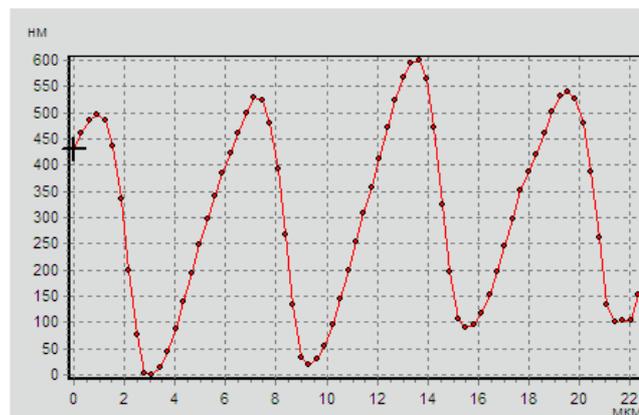


Рис.4. Профиль слепка

Для оказания химического воздействия мы наносили на поверхность слепка антибактериальные вещества (цинк, серебро, золото и диоксид титана), из коллоидного раствора наночастиц (Рис.5).

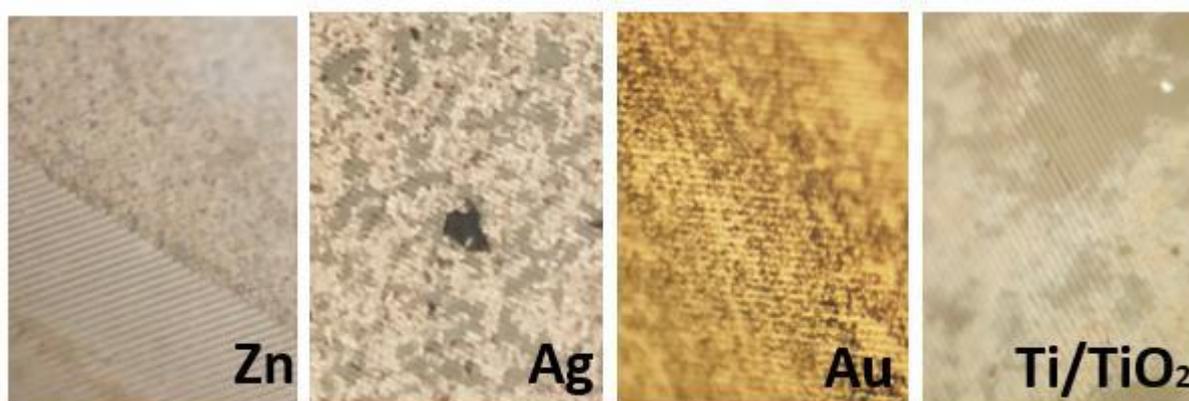


Рис.5. Оптическое изображение x200. Периодическая структура с различным покрытием.

Т. к. размеры частиц наносимых веществ были менее 100 нм, то периодическая структура сохранялась.

После на покрытия наносились бактерии *Vifidobacterium Longum* MC-42 путем осаждения. Для большего токсического воздействия покрытия на бактерии их площадь контакта должна быть как можно больше. Т. к. размер бактерий порядка нескольких микрометров, то наиболее подходящие оказалась структура с высотой 560 нм, в связи с тем, что охват бактерий этой структурой больше.

При падении бактерии оказываются между выступами рельефа, поэтому после взаимодействия с веществом они гибнут и проваливаются вниз. Тем самым чем больше высота рельефа, тем количество бактерий, которые будут под воздействие токсичного вещества тоже будет больше.

За счёт того, что рельеф слепка получился скругленным — это способствует более легкому «проваливанию» бактерий в его углубления, т. е. повышает эффективность покрытия.

При ещё большей высоте рельефа (>560нм) в одно углубление может попадать последовательно несколько бактерий, что продлевает время работы этого покрытия по сравнению с аналогами.

Затем покрытия можно промывать для повторно использования. Однако, слишком большая (>1-2мкм) высота покрытия уменьшит его прочность и сократит срок службы (число возможных циклов промывки до разрушения).

После подбора оптимального рельефа подложки мы приступили к тестированию покрытий на бактериях. В качестве бактерий использовали штамм *Bifidobacterium Longum* MC-42, который содержится в растворе пробиотика «Биовестин». Бактерии наносились на поверхность путем пассивного осаждения.

Для проверки антибактериального эффекта использовались подложки с нанесенными антибактериальными веществами (Ag, Zn), а для контроля служили такие же рельефные подложки без напыления покрытия. Полученные результаты демонстрируются на рис. 6.

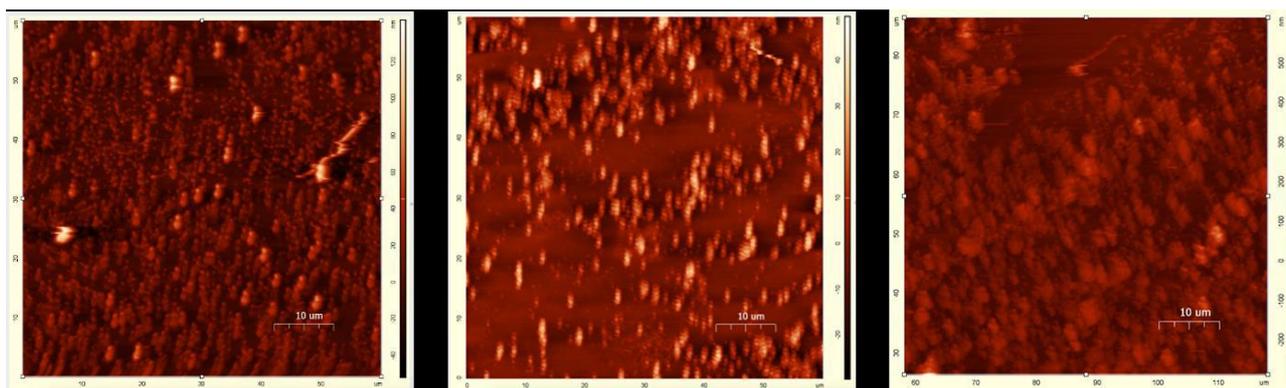


Рис.6. Области подложек 60×60мкм с бактериями:

(1) без антибактериального покрытия (2) покрытые серебром, (3) покрытые цинком.

О токсическом воздействии на бактерии судили по изменению их аспект-отношения, т. е. отношение длины к ширине (рис.7).

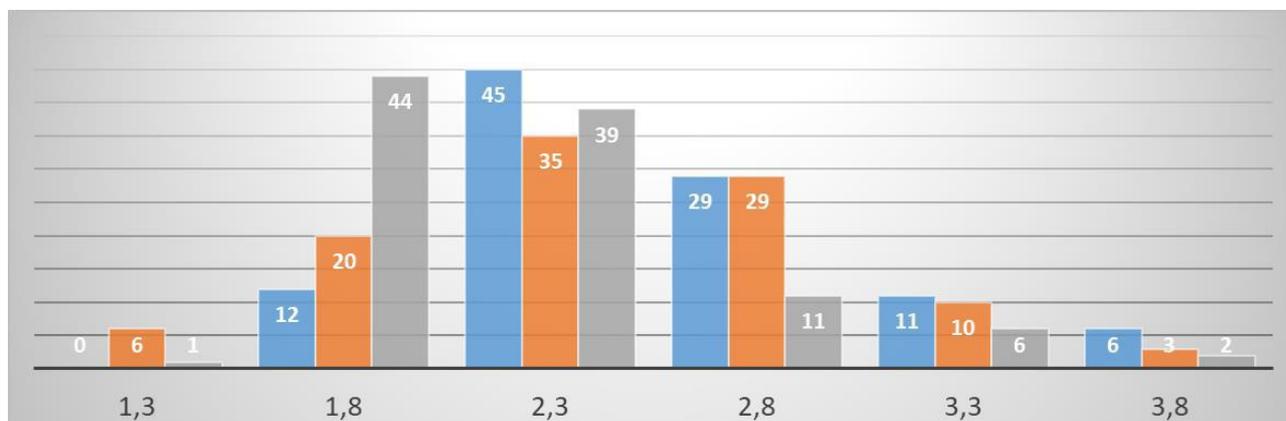


Рис.7. Аспект-отношения для бактерий *Bifidobacterium Longum* MC-42, после их нахождения в течение одного часа на следующих подложках: без покрытия (оранжевый маркер), серебряное покрытие (серый маркер), цинковое покрытие (синий маркер).

Как видно из рисунка 7, оба типа рельефного антибактериального покрытия оказывают заметное влияние на бактерии. Таким образом мы доказали работоспособность предложенного типа антибактериальных покрытий.

Выводы, заключение, перспективы

В ходе выполнения работы мы достигли поставленной цели: совместили физическое и химическое воздействие на бактерии. Мы выбрали наиболее подходящий рельеф подложки и протестировали его с двумя типами антибактериальных покрытий. Благодаря простой технологии изготовления предложенных подложек и их эффективности, они могут широко применяться на практике. В перспективе развития проекта мы планируем протестировать различные антибактериальные вещества для подбора более эффективного по соотношению цена/качество.

Список цитированных источников

1. Анализ результатов микробиологического мониторинга антибиотикорезистентности микроорганизмов, выделенных в хирургическом стационаре Абдулова Г.Б., Нурахова А.Д., Катаева Х.Т.
2. Natural Bactericidal Surfaces: Mechanical Rupture of *Pseudomonas aeruginosa* Cells by Cicada Wings.
3. ZnO Nanopillar Coated Surfaces with Substrate-Dependent Superbactericidal Property Guangshun Yi, Yuan Yuan, Xiukai Li, Yugen Zhang.
4. Selective bactericidal activity of nanopatterned superhydrophobic cicada *Psaltoda claripennis* wing surfaces Jafar Hasan, Hayden K. Webb, Vi Khanh Truong, Sergey Pogodin.
5. СЗМ NanoEducator. Руководство пользователя. http://nano.donstu.ru/labrab/szm_nanoeducator._rukovodstvo_polzovatelya_mac_os_.pdf