Письма в ЖЭТФ, том 120, вып. 1, с. 66 – 75

Фотоэлектрическая природа антибактериальной активности нанокомпозита ZnO/CuO[1)]

И. Н. Сараева[+ 2)], *Д. А. Заярный*[+], *А. Н. Настулявичус*[+], *Э. Р. Толордава*[+], *Е. В. Ултургашева*[+], *П. В. Крикунова*[*], *С. И. Кудряшов*[+]

[+]*Физический институт им. П. Н. Лебедева РАН, 119991 Москва, Россия*

[*]*Национальный исследовательский центр Курчатовский институт, 123182 Москва, Россия*

Поступила в редакцию 22 мая 2024 г.
После переработки 6 июня 2024 г.
Принята к публикации 6 июня 2024 г.

В работе проведено исследование антибактериальных свойств пленок ZnO/CuO, активируемых при освещении светодиодной лампой со спектром излучения, близким к естественному солнечному свету, на примере антибиотико-резистентной бактериальной культуры S.aureus. Антибактериальные свойства пленок связаны с фотоиндуцированной электропорацией клеток вследствие возникновения разности потенциалов между полупроводниковыми наночастицами n-типа ZnO и p-типа CuO с локальным увеличением напряженности поля до величины $\sim 1\cdot 10^4$ В/см, достаточной для протекания необратимой электропорации. Экспонирование приводит к снижению бактериальной обсемененности со значения 8×10^8 КОЕ/мл до 0. Спектры комбинационного рассеяния света до и после экспонирования были проанализированы с помощью расчета параметров спектральных пиков, соответствующих молекулярным колебаниям в нуклеиновых кислотах, клеточной мембране и белках. Было обнаружено исчезновение или деградация пиков, иллюстрирующих колебания A, G в нуклеиновых кислотах, нарушение вторичной структуры белков и появление разупорядоченных форм амида I, а также возникновение разупорядоченности цепочек липидов в мембране и разрушение N-ацетилмурамовой кислоты и N-ацетилглюкозамина, входящих в состав клеточной стенки грамположительных микроорганизмов, что свидетельствует о разрушении клеточной стенки и необратимых разрушениях внутренней структуры клеток.

DOI: 10.31857/S1234567824130123, EDN: EENENE

1. В настоящее время фотокатализ с использованием наноматериалов считается одной из наилучших технологий эффективной очистки воды из-за своей экологичности [1, 2]. В большинстве случаев в качестве материалов используются полупроводники, которые являются нетоксичными, химически стабильными и обладают малой себестоимостью. Так, оксиды цинка и меди, имеющие вышеописанные свойства, часто используются в различных комбинациях, как двухкомпонентных CuO/ZnO [3–9], так и с добавлением оксидов молибдена или железа и т.д., для промышленной очистки воды [10, 11]. Облучение ZnO светом приводит к возникновению фотоиндуцированных носителей заряда и реактивных форм кислорода (РФК), однако ширина запрещенной зоны ZnO составляет около 3.37 эВ [12], в связи с чем для образования электронов и дырок необходим ультрафиолетовый (УФ) свет, что усложнят процесс (например, делая его опаснее для человека). Оксид цинка является полупроводником n-типа, тогда как оксид меди CuO – полупроводник p-типа с шириной запрещенной зоны 2.6 эВ [13]. Оба оксида по отдельности обладают низкой каталитической эффективностью в связи с быстрой рекомбинацией электронов и дырок, однако при их совмещении появляется возможность перетекания фотовозбужденных электронов из высокой зоны проводимости в низкую [14]. В ряде работ описано эффективное применение гибридных структур CuO/ZnO в приложениях фотокатализа [15–17].

Помимо применений ZnO/CuO в промышленных средах, существует ряд исследований, направленных на возможность их использования в качестве антибактериальных агентов. Так,в одной из статей [18] приводятся результаты по созданию гибридных наноструктур методом золь-гель и демонстрации их антибактериальных свойств на примере S.aureus и E.coli. Однако в данной работе облучение структуры производилось УФ светом в течение 15 минут, гибель бактерий наблюдалась и в чистом ZnO, и объясня-

[1)]См. дополнительный материал к данной статье на сайте нашего журнала www.jetpletters.ac.ru

[2)]e-mail: saraevain@lebedev.ru

лась возникновением РФК. В другой статье рассмотрен антибактериальный эффект оксидов меди и цинка на примере штаммов P.aeruginosa, E.coli, S.aureus. Авторы также применяли золь-гель метод (длительность процесса около 2–4 ч). В одной из работ для создания структур ZnO/CuO был применен метода лазерной абляции, однако перед абляцией гибридной мишени авторы наносили цинк на нагретую поверхность меди путем распыления раствора $ZnCl_2$ [19], который является токсичным, в связи с чем повышается опасность использования метода для человека.

В данной работе представлен новый метод быстрого, эффективного и безопасного создания структур данного типа, включающий в себя магнетронное напыление (около 10 мин на процедуру) и лазерный перенос (около 15 мин на процедуру), исследованы их физико-химические свойства методами сканирующей электронной микроскопии, энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии, рентгеноструктурного анализа, спектроскопии комбинационного рассеяния света, а также проведено тестирование антибактериального эффекта на примере метициллин-резистентного штамма грамположительных бактерий S.aureus. Антибактериальный эффект подтвержден стандартными микробиологическими посевами, а также анализом спектров комбинационного рассеяния.

2. На поверхности стеклянной пластины методом магнетронного напыления в атмосфере аргона с использованием медной мишени формировалась 200 нм пленка оксида меди. Далее с использованием наносекундного лазерного маркера со сканирующей головкой предварительно полученные на стеклянной подложке методом лазерного переноса наночастицы оксида цинка вторично переносились на покрытую пленкой оксида меди пластину, образуя плотно прикрепленные к оксидной пленке микроскопические кластеры наночастиц ZnO в виде двухмерного растра с шагом ~ 10 мкм. Таким образом формировался двухмерный массив фоточувствительных к солнечному свету полупроводниковых диодов, образованных из n-проводящего ZnO и p-проводящего CuO. Исходя из работы [20], при солнечной энергии AM1.5 такой фотоэлемент может создавать разность электрических потенциалов на $p{-}n$ переходе до 1.44 В.

Полученные пленки были охарактеризованы методами сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (Tescan, Брно, Чехия) и энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС). СЭМ изображения затем обрабатывались в графическом пакете ImageJ с целью определения средних размеров поверхностного рельефа. Для этого производилась корректировка контраста и резкости изображений,задавался цветовой порог и производилось выявление контрастных областей, соответствующих рельефу,после чего рассчитывалось распределение площадей по размерам, которое затем пересчитывалось в средние радиусы.

Бактериальная культура S.aureus была получена из коллекции штаммов института им. Гамалеи. Изначальное количество составляло 8×10^5 КОЕ/мл (колониеобразующих единиц в миллилитре). Культура наносилась на подготовленные подложки, после чего 5 образцов подвергались воздействию светодиодной лампы в течение 1 ч, и 5 образцов оставались в темноте также в течение 1 ч. После этого осуществлялся посев микроорганизмов с целью установления антибактериального эффекта образцов, спровоцированного воздействием света.

Спектры РСА были получены с помощью дифрактометра Rigaku MiniFlex 600 (Токио, Япония), с использованием Cu Kα линии с длиной волны $\lambda = 0.154$ нм. Данные записывались в диапазоне углов 2θ от 10 до 60° с шагом 0.05. Значения ширины пиков на 0.5 высоты определялись методом лоренцевой аппроксимации каждого пика в OriginPro 2019b 9.6.5.169.

Численное моделирование электрических полей, окружающих бактериальную оболочку бактерий S.aureus, осуществлялось на основе прикладного пакета COMSOL Multiphysics 6.1 с использованием электротехнического модуля AC/DC, позволяющего рассчитывать электрические поля в присутствии электрических токов на основании решения уравнений Лапласа для внутренней задачи Дирихле. Выбирался пространственный объем $100 \times 100 \times 50$ мкм над подложкой из силикатного стекла (толщина 50 мкм), содержащий на ее поверхности участок (площадь 200 нм) пленки CuO с диаметром $d = 40$ мкм и цилиндрические кластеры ZnO на пленке с высотой от 1 до 2 мкм и с диаметром от 4 до 6 мкм с расстоянием между ними порядка 10 мкм. Объем над подложкой считался заполненным дистиллированной водой, в которой размещалась модель бактерии S.aureus в виде сферы размерами 1.2 мкм и электрическими параметрами, приведенными в работе [14]. Электрические параметры всех остальных компонентов модели выбирались из стандартных значений, содержащихся в пакете COMSOL.

Спектры КР были получены с помощью спектрометра Confotec MR520 (SOL Instruments, Минск, Беларусь) при длине волны лазера 532 нм, мощности лазера 15 мВт, времени накопления 2 с, с использованием 40-кратного объектива (MPlanFL, Nikon, Токио, Япония) с числовой апертурой 0.75 и рабочим расстоянием 0.66 мм. Фоновый сигнал флуоресценции удаляли из зарегистрированных спектров с помощью метода наименьших квадратов с фактором асимметричности 0.001, фактором сглаживания 7, порогом чувствительности 0.01, числом итераций 10. Полученные спектры были сглажены с помощью метода Савицкого–Голея и нормированы на пик фенилаланина 1011 см$^{-1}$.

Усредненные обработанные спектры для каждого образца аппроксимировались с помощью Лоренцева приближения с использованием программного обеспечения OriginPro (OriginPro 2019b 9.6.5.169). Процедура аппроксимации заключается в приближении формы пиков в обработанных спектрах КР к форме лоренцева контура:

$$y = y_0 + \frac{2A}{\pi}\frac{w}{4(x-x_c)^2+w^2}, \qquad (1)$$

где $H = 2\cdot A/(\pi\cdot w)$ – высота пика; A – площадь под кривой; w – ширина полосы (FWHM); x_c – положение максимума (центральная частота в см$^{-1}$); y_c и y_0 – максимальный и фоновый сигнал соответственно (рис. 1).

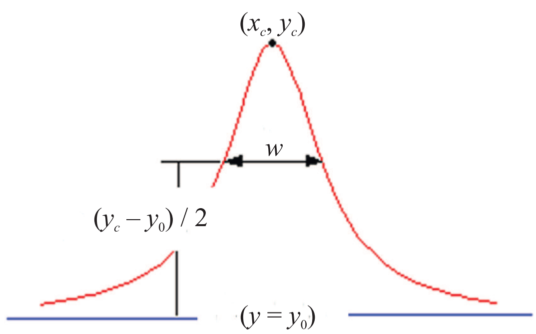

Рис. 1. (Цветной онлайн) Схематичное изображение лренцева контура, согласно которому осуществляется аппроксимация спектров КР

Обнаружение полос КР (скрытых пиков) осуществлялось путем определения локальных максимумов второй производной со сглаживанием Савицкого–Голея. Найденные значения (положения максимумов второй производной x_c) фиксировались, после чего все пики аппроксимировались лоренцевым приближением (1), в результате чего были получены значения ширины полосы w и площади под кривой A. Разброс данных значений (стандартное отклонение) оценивался программой в соответствии с оценкой уровня шума и величиной остаточной ошибки.

3. Для пленок CuO, ZnO и CuO/ZnO была проведена СЭМ и ЭДС характеризация. Поверхность CuO пленок имеет наношероховатость с размерами зерен порядка 90 нм (рис. 2).

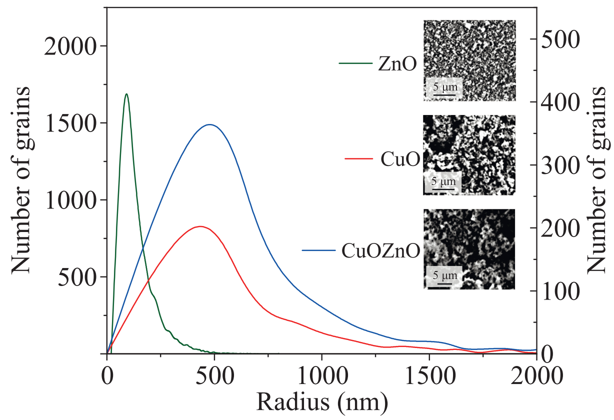

Рис. 2. (Цветной онлайн) Распределение зерен субмикрорельефа на поверхности напыленных пленок. Зеленая линия – CuO; красная линия – ZnO; синяя линия – CuO/ZnO. Вставки: соответствующие СЭМ изображения пленок

Согласно данным ЭДС, оксид меди равномерно распределен по поверхности подложки (рис. 1). Большое количество кислорода обусловлено его высоким содержанием в силикатном стекле, на которое производилось напыление (табл. 1).

Таблица 1. Элементы, содержащиеся в выбранной области для пленки CuO

Элемент	Атомный %
O	55.47
Si	17.76
Cu	13.37
C	13.40
Всего	100.00

Пленка ZnO имеет субмикромасштабный рельеф, с размерами зерен до 450 нм. Данные ЭДС иллюстрируют высокую производительность метода лазерного переноса для создания пленок (рис. 4, табл. 2). Однородность покрытия подтверждается равномерным распределением цинка на картах ЭДС.

Таблица 2. Элементы,содержащиеся в выбранной области для пленки ZnO

Элемент	Атомный %
O	40.02
Zn	48.28
C	11.47
Si	0.22
Всего	100.00

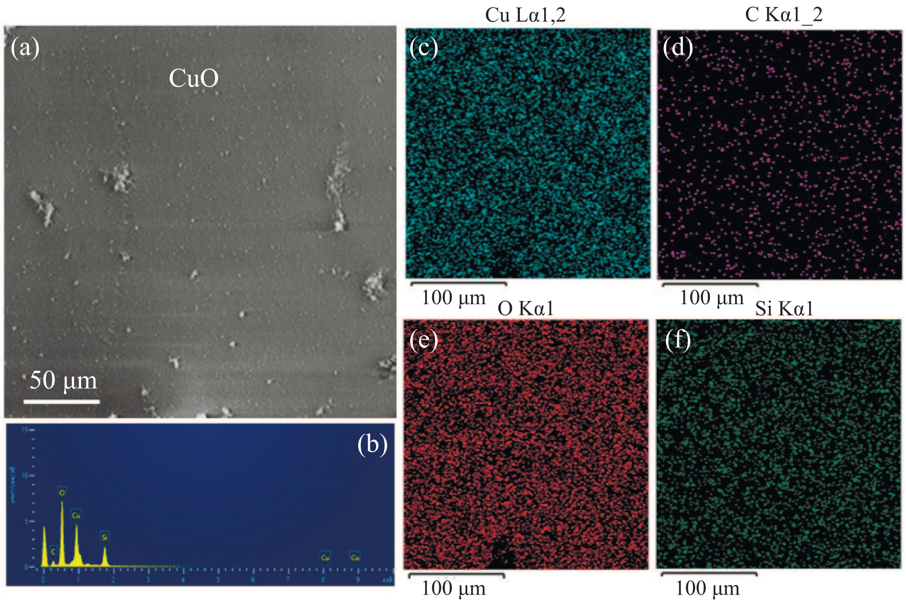

Рис. 3. (Цветной онлайн) (a) – СЭМ-изображение поверхности пленки CuO; (b) – соответствующий энергодисперсионный спектр; (c)–(f) – карты распределения элементов в выбранной области

Комбинированные пленки CuO/ZnO с субмикронной шероховатостью (около 500 нм) также демонстрируют однородное распределение цинка и меди (рис. 5, табл. 3).

Таблица 3. Элементы,содержащиеся в выбранной области для комбинированной пленки CuO/ZnO

Элемент	Атомный %
O	45.17
Zn	34.80
C	11.83
Si	4.12
Cu	4.08
Всего	100.00

В результате проведения бактериологического посева было выявлено, что при экспонировании светом в течение 1 часа наблюдается снижение КОЕ/мл до нуля, тогда как в темноте эффекта нет (табл. 4).

Таблица 4. Данные микробиологического посева с пленок CuO, ZnO, CuO/ZnO

Образец	Обсемененность без экспонирования, КОЕ/мл	Обсемененность с экспонированием, КОЕ/мл
Контроль	8×10^8	8×10^8
CuO	0	0
ZnO	6×10^8	6×10^8
CuO/ZnO	6×10^8	0

Согласно данным посева, НЧ меди обладают антибактериальными свойствами как с экспонированием, так и без него, однако после лазерного переноса ZnO на пленку CuO антибактериальный эффект исчезает. Данный факт может быть связан с покрытием пленки CuO частицами ZnO, которые не обладают антибактериальным эффектом *per se* и нивелируют бактерицидную активность оксида меди. Тем не менее, после экспонирования образца под светом светодиодной лампы в течение 1 ч наблюдается сильный антибактериальный эффект, что свидетельствует об ином механизме противомикробного действия, а именно – электропорации.

Данные РСА подтверждают содержание в пленках ZnO (100), (002), (101), (110), (103) и CuO (100), (002), (111), (101), (202) (рис. 6) [15, s16].

Размер кристаллитов можно определить из полученных спектров РСА с помощью формулы Шерера (1):

$$D_{h,k,l} = 0.9\lambda/(\beta_{h,k,l}\cos\theta), \qquad (1)$$

где $\lambda = 0.154$ нм (Cu $K\alpha$-линия) – длина волны рентгеновского излучения, β – полная ширина на 0.5 высоты (*full linewidth at half maximum*, FWHM) в радианах, θ – угол дифракции на соответствующих плоскостях. В табл. 5 представлены размеры кристаллитов, рассчитанные из данных спектров РСА.

Таким образом, средний размер кристаллитов ZnO составляет порядка 26 нм, тогда как средний размер кристаллитов CuO составляет около 35 нм.

Разность потенциалов между полупроводником n-типа ZnO и полупроводником p-типа CuO составляет 1.4666 В при дневной солнечной освещенности с

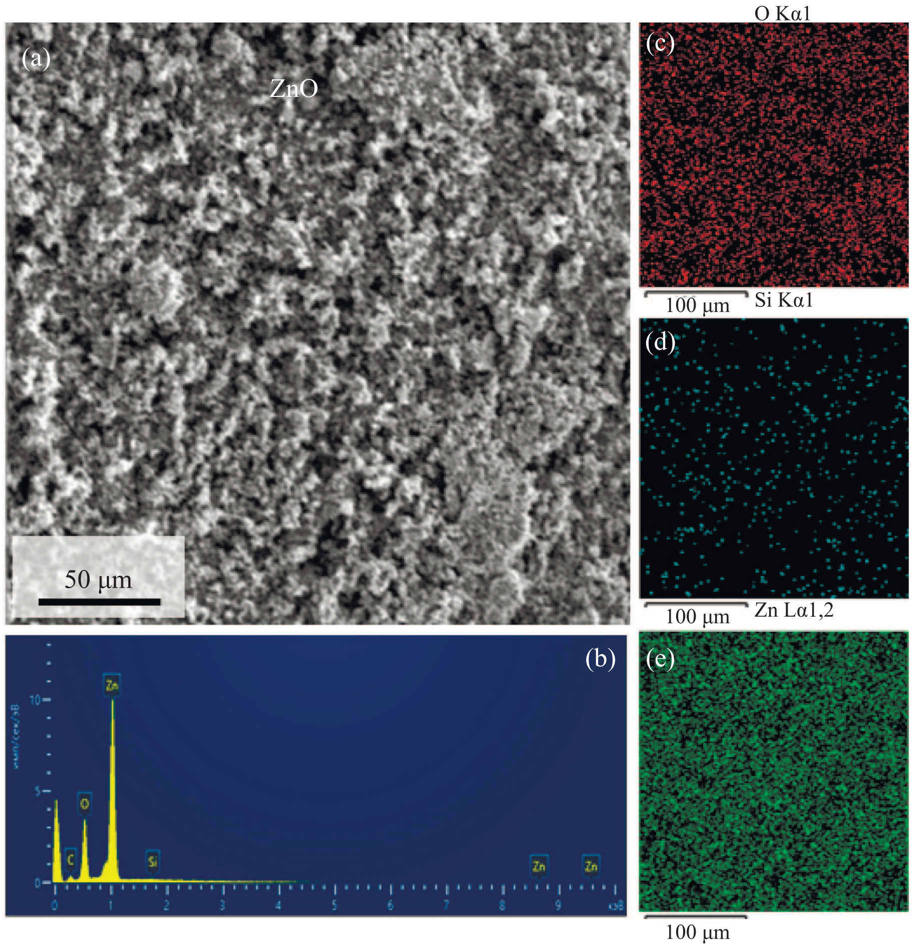

Рис. 4. (Цветной онлайн) (a) — СЭМ-изображение поверхности пленки ZnO; (b) – соответствующий энергодисперсионный спектр; (c)–(e) – карты распределения элементов в выбранной области.

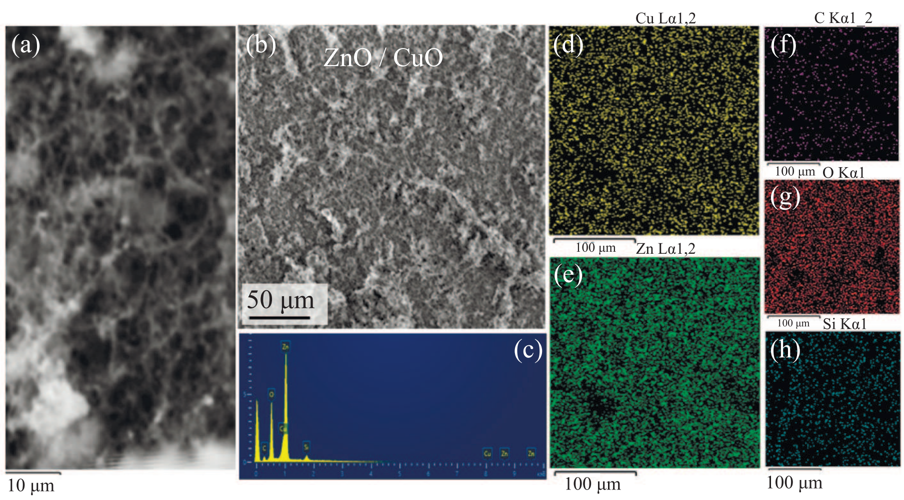

Рис. 5. (Цветной онлайн) (a), (b) – СЭМ-изображение поверхности пленки ZnO/CuO при различных увеличениях; (c) – соответствующий энергодисперсионный спектр; (d)–(h) – карты распределения элементов в выбранной област.

AM1.5 (air mass) по стандарту ISO 9845-1:2022. Значение разности потенциалов взято из работы [20].

Согласно расчетам, напряженность электрического поля на внешней границе бактериальной обо-

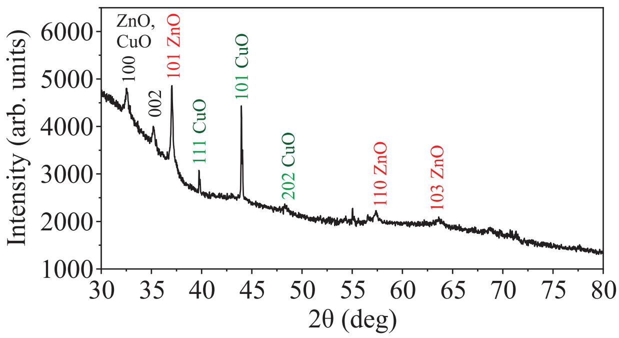

Рис. 6. (Цветной онлайн) Данные рентгеноструктурного анализа нанесенной пленки ZnO/CuO

Таблица 5. Размеры кристаллитов ZnO и CuO, рассчитанные из данных РСА

2θ, градусы	Плоскость, *hkl*	Размер кристаллитов ZnO, нм	Размер кристаллитов CuO, нм
32.5	1 0 0	28.3	28.3
35.2	0 0 2	27.5	27.5
37	1 0 1	45.1	
40	1 1 1		51.1
44	1 0 1		48.9
48.3	2 0 2		20.8
57.3	1 1 0	22.0	
63.6	1 0 3	10.3	

лочки S.aureus составляет более $1 \cdot 10^4$ В/см (рис. 7), что, согласно литературным данным, соответствует режиму необратимой электропорации [24].

Усредненные спектры КР и их вторые производные представлены на рис. 8.

Параметры спектральных полос были получены методом лоренцева приближения (см. раздел 2) с поиском скрытых пиков с помощью вторых производных спектров (рис. 9). Данные значения отображены в табл. S1, где каждая ячейка включает до трех строк, соответствующих положению максимума, ширине полосы на 0.5 высоты (FWHM) и площади под кривыми со стандартными ошибками (табл. S1, дополнительные материалы).

В общем случае антибактериальный эффект может проявляться в виде повреждения ДНК/РНК (в том числе их азотистых оснований аденина A, гуанина G, цитозина C, урацила U), белков (их вторичной структуры) и мембраны.S.aureus является грамположительной бактерией с плотной клеточной мембраной, и предполагаемый процесс электропорации должен отражаться в изменениях спектров КР.

Пики, соответствующие $-PO_2$, C-C колебаниям в нуклеиновых кислотах, расположены в области 1070, 1091, 1106, 1121 см$^{-1}$ [25]. Все пики сдвигаются в сторону больших волновых чисел, а также демонстрируют уширение и увеличение площади под кривой, что может быть связано с разупорядочиванием молекулярных связей. Пик 1232 см$^{-1}$ [26], соответствующий асимметричным валентным колебаниям $-PO_2$, однако, демонстрирует сужение и уменьшение площади под кривой. Полоса 1121 см$^{-1}$ исчезает после экспонирования. Колебания в C, G характеризуются пиком 1181 см$^{-1}$, который демонстрирует сдвиг до 1178 см$^{-1}$, значительное уширение и увеличение площади под кривой. Пики 1121, 1333 см$^{-1}$ (A [27]) исчезают после экспонирования. A, G иллюстрируются пиком 1346 см$^{-1}$, который сдвигается до 1341 см$^{-1}$, демонстрирует значительное уменьшение ширины и площади. Дополнительный пик A, G на 1364 см$^{-1}$ также исчезает после экспонирования. Пик 1786 см$^{-1}$ отображает C=O колебания в ДНК [28], он демонстрирует сдвиг в сторону меньших длин волн. Таким образом, наблюдаемые спектральные изменения можно связать с нарушением структуры ДНК бактерий в процессе электропорации.

Пик 1135 см$^{-1}$ отражает молекулярные колебания в липидах и фосфолипидах; его ширина и площадь демонстрируют увеличение. Пик 1454 см$^{-1}$ относится к CH_2 колебаниях в липидах и белках; он сдвигается до 1452 см$^{-1}$, сужается, площадь уменьшается. Колебания основных мембранных липидов расположены в области 2800–3000 см$^{-1}$. Из них три пика (2874, 2982, 3015 см$^{-1}$) демонстрируют уширение и увеличение площади, два (2900, 2937 см$^{-1}$) – сужение и уменьшение площади. Пик 2998 см$^{-1}$ полностью исчезает в спектрах бактерий, подвергнутых экспонированию. Пик 1308 см$^{-1}$ соответствует CH_2 колебаниям в насыщенных жирах и демонстрирует значительное сужение.

Отношение интенсивностей КР пиков I_{2937}/I_{2874}, I_{2848}/I_{2884}, I_{1093}/I_{1129}, I_{1095}/I_{1064} иллюстрирует степень разупорядоченности цепочек липидов [29, 30]. Согласно литературным данным, учитываются значения не площадей под кривыми соответствующих пиков, а непосредственно интенсивности на спектрах КР, в связи с чем в табл. 7 указаны именно эти значения.

Пики 2848 см$^{-1}$ и 2884 см$^{-1}$ относятся к симметричным и асимметричным валентным колебаниям C-H в метиленовых группах, а пик 2935 см$^{-1}$ – симметричным валентным колебаниям метила в цепях алкилов [31]. Отношения интенсивностей пиков 2935 см$^{-1}$ и 2880 см$^{-1}$ считаются хорошим показателем степени разупорядоченности в бислое алкилов. Область 1000–1200 см$^{-1}$ отображает

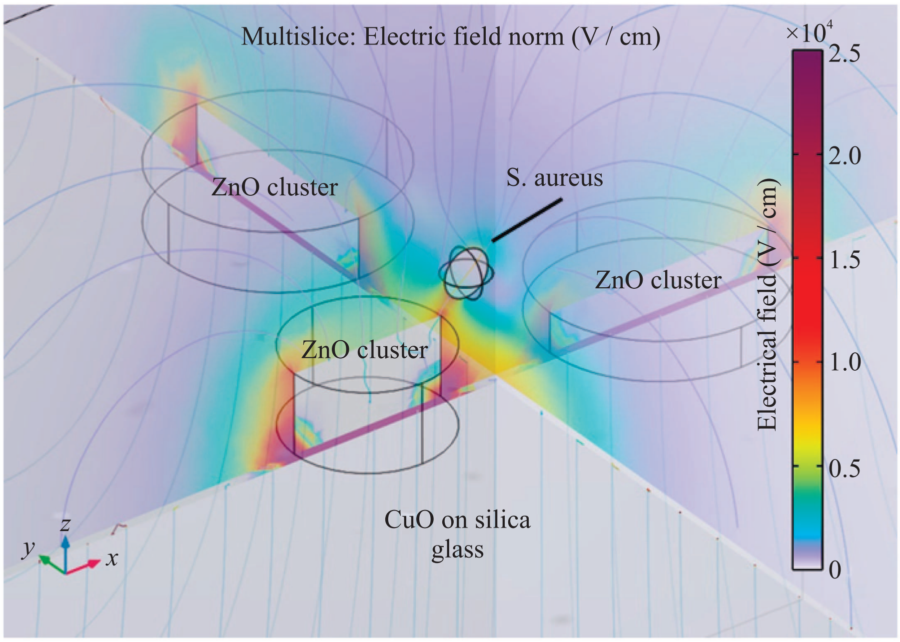

Рис. 7. Численное моделирование электрического поля в трехмерной модели, включающей в себя пленку CuO на подложке из силикатного стекла, кластеры ZnO и бактерию S.aureus

Таблица 6. Электрические параметры компонентов для моделирования в программной среде COMSOL Multiphysics 6.1

Характеристика	ZnO	CuO	S.aureus		Дистиллированная вода	Силикатное стекло
			Цитоплазма	Мембрана		
Электрическая проводимость, см/м	10^3	0.01	0.8	0.01	5.5×10^{-6}	10^{-14}
Относительная диэлектрическая проницаемость, e/e$_0$	8.3	18.1	70	60	80	3.75

Таблица 7. Отношение интенсивностей КР пиков I_{2937}/I_{2874}, I_{2848}/I_{2884}, I_{1093}/I_{1129}, I_{1095}/I_{1064} культуры S.aureus до и после экспонирования светом

	Без экспонирования	После экспонирования
I_{2937}/I_{2874}	1.93	1.85
I_{2848}/I_{2884}	0.58	0.55
I_{1093}/I_{1129}	0.84	0.85
I_{1095}/I_{1064}	1.84	2.16

валентные C-C колебания и связанные с ними межмолекулярными trans/gauche изменениями в алкильных цепях в фосфолипидах. Пик 1130 см$^{-1}$ относится к валентным колебаниям C-C trans-конформации алкильных цепей, тогда как пик 1090 см$^{-1}$ иллюстрирует валентные колебания C-C gauche-конформации. Таким образом, отношение интенсивностей данных пиков отображает соотношение порядка/разупорядочивания в алкильных цепях [29, 32].

Важными компонентами клеточной стенки бактерий являются пептидогликаны, N-ацетилмурамовая кислота (НАМ) и N-ацетилглюкозамин (НАГ). Согласно литературным данным, соответствующие данным молекулярным колебаниям КР пики расположены в области 1388 и 1415 см$^{-1}$ [33]. Интенсивность пиков уменьшается, а также наблюдается сдвиг пика 1415 см$^{-1}$ в сторону больших волновых чисел, что свидетельствует о разрушении клеточной стенки.

Phe (фенилаланин) характеризуется пиками 1011, 1036, 1580 см$^{-1}$. Пик 1011 см$^{-1}$ сдвигается до 1008 см$^{-1}$, пик 1580 см$^{-1}$ – до 1586^{-1}. Ширина и площадь пиков уменьшается, в связи с чем можно сделать вывод о снижении концентрации Phe, вызванном его разрушением. Пик 1166 см$^{-1}$ соответствует колебаниям в ароматических аминокислотах. Аналогично данным ранее опубликованной статьи, пик сдвигается в сторону

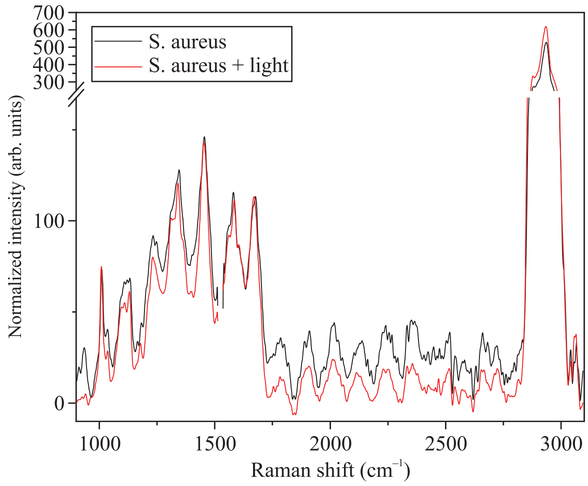

Рис. 8. (Цветной онлайн) Усредненные спектры КР бактерий S.aureus на пленке ZnO/CuO без освещения (черная линия, "S.aureus") и после экспонирования светом в течение 1 ч (красная линия, "S.aureus + light") в диапазоне 900–3100 см$^{-1}$

меньших волновых чисел, и его площадь уменьшается [34].

Амид III в спектрах КР представлен в виде пиков 1249, 1293 см$^{-1}$. Все пики сдвигаются в сторону меньших волновых чисел, сужаются, их площадь уменьшается. Аналогичная динамика наблюдалась в работе [35] Амид II характеризуется пиками 1435, 1552 см$^{-1}$. Полоса 1435 см$^{-1}$ исчезает после экспонирования, 1552 см$^{-1}$ сдвигается в сторону больших волновых чисел до 1559 см$^{-1}$, уширяется, площадь под кривой увеличивается. Пик 1552 см$^{-1}$ также иллюстрирует вклад триптофана. Еще один пик, отнесенный к триптофану, расположен в области 1308 см$^{-1}$, и его ширина уменьшается после экспонирования. Колебания амида I отображены в спектрах КР в виде полос 1621, 1646 см$^{-1}$ (β-листы), 1663 (α-спирали), 1678 (β-листы), 1696 см$^{-1}$ (β-витки). Пик 1646 см$^{-1}$ исчезает после экспонирования, все остальные пики демонстрируют сужение и уменьшение площади. Кроме того, в спектрах второй производной появляется слабый пик в области 1687 см$^{-1}$, который отображает разупорядоченное состояние амида I (random coil) [25]. Пик 1621 см$^{-1}$ демонстрирует сдвиг до 1623 см$^{-1}$ и увеличение площади почти в 2 раза; возможно, данный пик также характеризует разупорядоченное состояние амида I. 1801 см$^{-1}$ также сужается и его площадь уменьшается. Пик 1361 см$^{-1}$, отнесенный к C-H колебаниям в белках, исчезает.

4. В данной работе было проведено исследование антибактериальных свойств пленок ZnO/CuO, активируемых при освещении светодиодной лампой со спектром излучения, близким к естественному солнечному свету, на примере бактериальной культуры S.aureus. Характеризация пленок была произведена методами СЭМ, ЭДС, РСА. Согласно полученным данным, был обеспечен однородный перенос оксида цинка на пленку CuO, в результате чего формировался субмикронный рельеф (средний масштаб рельефа ≈ 500 нм) с размерами кристаллитов ZnO и CuO порядка 30–40 нм.

Антибактериальные свойства пленок были связаны с возникновением пор в клеточной мембране вследствие фотоиндуцированного локального увеличения электрической напряженности до значения $\sim 1 \cdot 10^4$ В/см, соответствующего таковому для протекания необратимой электропорации. Данный эффект был объяснен возникновением разности потенциалов между полупроводником n-типа ZnO и полупроводником p-типа CuO. Согласно проведенным микробиологическим посевам, пленки ZnO/CuO не обладают антибактериальными свойствами без освещенности. Напротив, экспонирование привело к снижению бактериальной обсемененности на девять порядков – от значения 8×10^8 КОЕ/мл до 0.

КР спектры до и после экспонирования были проанализированы с помощью расчета параметров спектральных пиков, соответствующих молекулярным колебаниям в нуклеиновых кислотах, клеточной мембране и белках. Было детектировано исчезновение или деградация пиков, иллюстрирующих колебания A, G в нуклеиновых кислотах, что обусловлено разрушением ДНК в процессе электропорации. Также было выявлено нарушение вторичной структуры белков, а именно, снижение концентрации α-спиралей и β-листов и появление разупорядоченных форм амида I (random coil). Поскольку электропорация в значительной степени повреждает мембрану бактериальной клетки, было проведено детальное исследование спектральных полос, иллюстрирующих молекулярные колебания составляющих клеточной мембраны. Так, рост величины отношения интенсивностей КР пиков I_{1093}/I_{1129}, I_{1095}/I_{1064} иллюстрирует рост разупорядоченности цепочек липидов в мембране. Кроме того,интенсивность пиков НАМ и НАГ, входящих в состав клеточной стенки грамположительных микроорганизмов, уменьшается, а также наблюдается сдвиг одного из пиков в сторону больших волновых чисел, что свидетельствует о разрушении клеточной стенки.

Финансирование работы. Данная работа поддержана Министерством науки и высшего образования Российской федерации (соглашение # 075-15-2023-603).

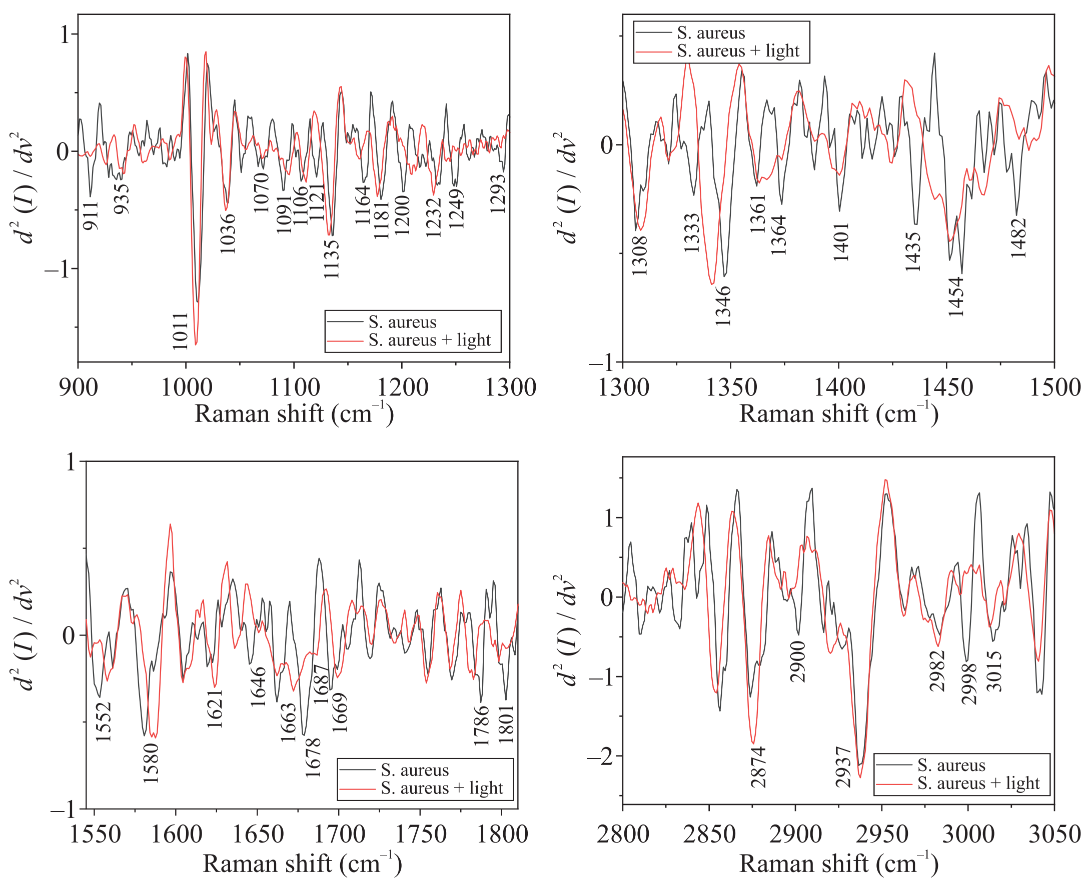

Рис. 9. (Цветной онлайн) Графики второй производной спектров КР культуры S.aureus до (черная линия, “S.aureus”) и после (красная линия,“S.aureus + light”) экспонирования, представленные в диапазонах 900–1300 см$^{-1}$ (a), 1300–1500 см$^{-1}$ (b), 1540–1810 см$^{-1}$ (c), 2800–3050 см$^{-1}$ (d)

Конфликт интерсов. Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

1. R. D. C. Soltani, S. Jorfi, M. Safari, and M. S. Rajaei, J. Environ. Manag. **179**, 47 (2016).
2. F. Cao, T. Wang, and X. Ji, Applied Surface Science **471**, 417 (2019).
3. В. В. Томаев, В. А. Полищук, Н. Б. Леонов, Т. А. Вартанян, Известия РАН. Серия физическая **87**(10), 1446 (2023).
4. К. В. Ларионов, П. Б. Сорокин, Успехи физических наук **191**(1), 30 (2021).
5. В. П. Вейко, Ю. Ю. Карлагина, В. В. Романов, Р. М. Яцук, Е. Е. Егорова, Е. А. Зерницкая, А. И. Яременко, Г. Н. Черненко, С. Г. Одинцова, Г. В. Горный, Фотоника **14**(6), 510 (2020).
6. Н. А. Босак, А. Н. Чумаков, А. А. Шевченок, Л. В. Баран, А. Г. Кароза, В. В. Малютина-Бронская, А. А. Иванов, Журнал прикладной спектроскопии **88**(2), 221 (2021).
7. О. А. Реутова, В. А. Светличный, Известия РАН. Серия физическая **86**(7), 949 (2022).
8. А. Э. Муслимов, И. Д. Веневцев, Л. А. Задорожная, П. А. Родный, В. М. Каневский, Письма в ЖЭТФ **112**(8), 240 (2020).
9. С. Н. Багаев, С. М. Аракелян, А. О. Кучерик, Д. Н. Бухаров, О. Я. Бутковский, Известия РАН. Серия физическая **84**(12), 1682 (2020).
10. K. P. Sapkota, I. Lee, S. Shrestha, A. Islam, A. Hanif, J. Akter, and J. R. Hahn, Journal of Environmental Chemical Engineering **9**(6), 106497 (2021).
11. M. K. Hussain, N. R. Khalid, M. B. Tahir, M. Tanveer, T. Iqbal, and M. Liaqat, Materials Science in Semiconductor Processing **155**, 107261 (2023).
12. V. D. Thinh, V. D. Lam, T. N. Bach, N. D. Van, D. H. Manh, D. H. Tung, and N. T. H. Le, J. Electron. Mater. **49**, 2625 (2020).
13. J. Singh and R. K. Soni, Applied Surface Science **521**, 146420 (2020).
14. J. Trakulmututa, C. Chuaicham, S. Shenoy, A. Srikhaow, K. Sasaki, and S. M. Smith, Opt. Mater. **133**, 112941 (2022).

15. N. D.Dien, P. T. T. Ha, X. H. Vu, T. T. Trang, T. D. T. Giang, and N. T. Dung, RSC Advances **13**(35), 24505 (2023).
16. Y. Lv, J. Liu, J. Liu, Z. Zhang, W. Zhang, A. Wang, F. Tian, W. Zhao, J. Yan, Mater. Chem. Phys. **267**, 124703 (2021).
17. L. Xu, Y. Zhou, Z. Wu, G. Zheng, J. He, and Y. Zhou, J. Phys. Chem. Solids **106**, 29 (2017).
18. N. Widiarti, J. K. Sae, and S. Wahyuni, Conference Series: Materials Science and Engineering **172**(1), 012036 (2017).
19. A. Al Baroot, M. Alheshibri, Q. A. Drmosh, S. Akhtar, E. Kotb, and K. A. Elsayed, Arabian Journal of Chemistry **15**(2), 103606 (2022).
20. K. E. Kone, A. Bouich, D. Soro, and B. M. Soucase, Opt. Quantum Electron. **55**, 616 (2023); https://doi.org/10.1007/s11082-023-04892-9.
21. A. Sanchis, A. P. Brown, M. Sancho, G. Martinez, J. L. Sebastian, S. Munoz, and J. M. Miranda, The European Bioelectromagnetics Association **28**(5), 393 (2007).
22. D. M. Fernandes, R. Silva, A. W. Hechenleitner, E. Radovanovic, M. C. Melo, and E. G. Pineda, Mater. Chem. Phys. **115**(1), 110 (2009).
23. A. Alsulmi, N. N. Mohammed, A. Soltan, M. A. Messih, and M. A. Ahmed, RSC Advances **13**(19), 13269 (2023).
24. T. Kotnik, W. Frey, M. Sack, S. H. Meglič, M. Peterka, and D. Miklavčič, Trends Biotechnol **33**, 480 (2015).
25. G. Pezzotti, J. Raman Spectrosc. **52**(12), 2348 (2021).
26. G. Azemtsop Matanfack, A. Pistiki, P. Rosch, and J. Popp, Life **11**(10), 1003 (2021).
27. F. U. Ciloglu, A. M. Saridag, I. H. Kilic, M. Tokmakci, M. Kahraman, and O. Aydin, Analyst **145**(23), 7559 (2020).
28. S. Pramanik, S. Chatterjee, A. Saha, P. S. Devi, and G. Suresh Kumar, J. Phys. Chem. B **120**(24), 5313 (2016).
29. K. Gardikis, S. Hatziantoniou, K. Viras, M. Wagner, and C. Demetzos, Int. J. Pharm. **318**(1–2), 118 (2006).
30. M. He, T. Wu, S. Pan, and X. Xu, Applied Surface Science **305**, 515 (2014).
31. I. R. Hill and I. W. Levin, J. Chem. Phys. **70**(2), 842 (1979).
32. M. He, T. Wu, S. Pan, and X. Xu, Appl. Surf. Sci. **305**, 515 (2014).
33. A. C. Williams and H. G. M. Edwards, J. Raman Spectrosc. **25**(7–8), 673 (1994).
34. I. Saraeva, D. Zayarny, E. Tolordava, A. Nastulyavichus, R. Khmelnitsky, D. Khmelenin, S. Shelygina, and S. Kudryashov, Chemosensors **11**(7), 361 (2023).
35. L. Cui, P. Chen, S. Chen, Z. Yuan, C. Yu, B. Ren, and K. Zhang, Anal. Chem. **85**(11), 5436 (2013).