

УДК 535.21

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СТРУКТУРЫ НА ОСНОВЕ ЭЛЕКТРОЗАРЯЖЕННЫХ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ ПЛЕНОК НА ПОЛУПРОВОДНИКЕ

Д. А. Заярный, Э. Р. Толордава, А. А. Ионин, С. И. Кудряшов,
А. А. Настулявичус, Л. Ф. Хаертдинова, Н. И. Буслеев, С. Н. Шелыгина

Для наноструктурированных лазерным излучением металлических пленок, напыленных на пластины монокристаллического кремния, впервые обнаружены антибактериальные свойства при приложении к таким структурам слабого, не превышающего по напряжению 6.5 В, электрического поля. Показано, что эти свойства определяются наличием на поверхности структур периодического переменного профиля удельного электрического сопротивления и присутствием в такой структуре контакта металл-полупроводник (переход Шоттки).

Ключевые слова: наноматериалы, лазерная абляция, полупроводниковые материалы, антибактериальные покрытия.

Введение. В рамках инициативы Всемирной организации здравоохранения, изложенной в “Глобальном плане действий по устойчивости к противомикробным препаратам, включающий и устойчивость к антибиотикам” важную роль приобретают исследования с использованием нанотехнологических разработок агентов, проявляющих бактерицидное действие. Одним из таких направлений исследований стала разработка антибактериальных защитных покрытий на основе металлических нанопористых пленок [1, 2]. Активность таких пленок напрямую не вызвана выбросом вредных веществ в виде ионов металлов и активных форм кислорода, приводящих к гибели бактерий, что обеспечивает отсутствие нежелательных побочных эффектов и высокую безопасность при их применении. В рамках этих исследований была обнаружена прямая корреляция бактерицидной эффективности и такого физического параметра, как работа выхода электронов для нанопористых пленок. Стоит отметить, что при положительности антибактериального эффекта его наблюдавшаяся невысокая эффективность не

ФИАН, 119991 Россия, Москва, Ленинский пр-т, 53; e-mail: dzayarny@sci.lebedev.ru.

позволяет надеяться на практическое применение результатов этих исследований. Но они натолкнули нас на идею, что для повышения антибактериального эффекта можно использовать электрически заряженные наноструктурированные металлические пленки, обладающие при определенных условиях существенно более высокими значениями работы выхода электронов. Упомянем, что приложение разности электрических потенциалов к тонкой проводящей пленке сопровождается появлением электрического тока в ней и существенным тепловыделением, а также электролизом воды и образованием пероксида водорода в среде нанесенного на пленку исследуемого бактериального бульона. Оба упомянутых фактора были учтены нами при проведении рассматриваемых в статье исследований для минимизации их воздействия на экспериментальные результаты.

Экспериментальная часть. Исследуемая нами структура формировалась на тонкой 380 мкм плоскопараллельной пластине монокристаллического кремния n -типа с нанесенным на нее методом магнетронного напыления в среде аргона двухсторонним 500 нм металлическим покрытием. Для напыления на кремний использовались такие металлы как серебро, золото и палладий 99.99% чистоты. Сформированный таким образом переход металл-полупроводник представляет собой классический для полупроводниковой электроники барьер Шоттки [3], а сама исследуемая структура с двухсторонним металлическим напылением является хорошо известным в электронике двуханодным диодом Зенера с планарной геометрией.

Построенная нами экспериментальная вольт-амперная характеристика структуры металл-полупроводник-металл для перехода золото-кремний-золото в области обратной проводимости представлена на рис. 1, там же приведены значения напряжения лавинного пробоя планарного диода Зенера $U_{\text{проб.}}$ для всех трех использовавшихся нами металлов и их зависимость от их удельного электрического сопротивления $\rho_{\text{уд.}}$.

Как и в работе [4], на одной из сторон металлизированной кремниевой пластины методом лазерной абляции в воздухе импульсом излучения фемтосекундного волоконного лазера ближнего ИК диапазона формировался двухмерный микромасштабный точечный растр. В данной работе использовалась лазерная установка Satsuma фирмы Amplitude systemes (Франция) с длиной волны генерации $\lambda = 1.03$ мкм, длительностью одиночного импульса по полувисоте 300 фс, частотой повторения импульсов до 500 кГц и максимальной энергией в импульсе 10 мкДж. Лазерное излучение отклонялось и фокусировалось головкой гальваносканера АТЕСО с фокусным расстоянием F-theta объектива 160 мм, образуя точечный растр с шагом порядка 10 мкм на поверхности кремниевой пластины. Вид и профиль поверхности, полученной после лазерной обра-

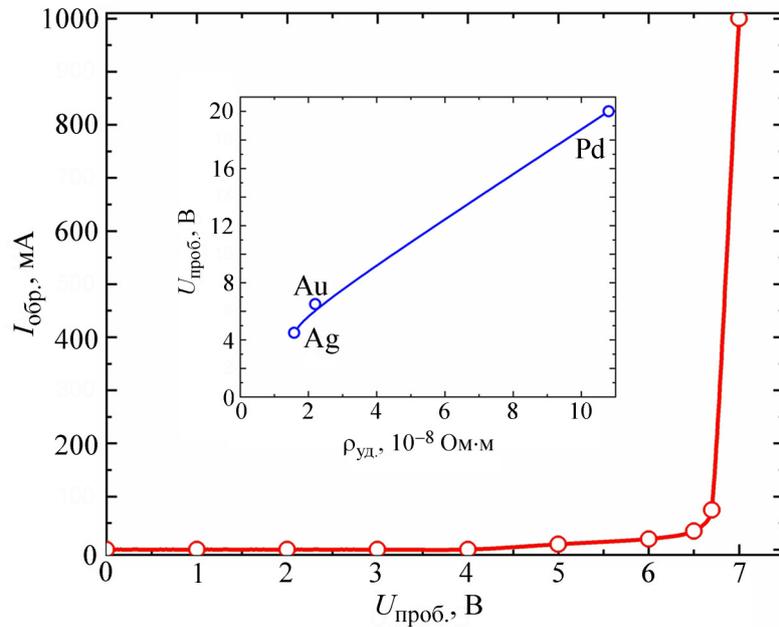


Рис. 1: Характерная экспериментальная зависимость обратного тока $I_{обр}$ от приложенного напряжения $U_{проб}$ для планарного диода Зенера.

ботки, отслеживались с помощью растрового электронного микроскопа (СЭМ) JEOL 7001F (рис. 2).

Энергия в импульсе фемтосекундного лазера Satsuma подбиралась такой, что обработанные лазерным излучением участки металлической пленки были покрыты конгломератами слабосвязанных между собой металлических наночастиц и вследствие этого электрическое сопротивление такого участка оказывалось существенно выше первоначального. Это также сопровождалось увеличением в несколько раз общего сопротивления металлической пленки на поверхности кремниевой пластины после лазерной обработки, что фиксировалось по измерениям миллиомметра VICHY VC480C+.

При протекании электрического тока по такой обработанной лазером металлической пленке вблизи нее формируется двумерное микромасштабное периодическое магнитное поле, быстро размывающееся по мере удаления от поверхности пленки (результаты моделирования магнитного поля приведены на рис. 3). Перемещающиеся в таком пространственно-переменном магнитном поле вблизи поверхности бактерии могут испытывать не только внешнее воздействие лоренцевских сил, но и наводимых в бактериальной цитоплазме электрических токов, приводящих, например, к локальному термическому воздействию.

Антибактериальные свойства полученной нами структуры исследовались при приложении к ней обратного напряжения, близкого к напряжению лавинного пробоя, и общем токе через структуру металл-полупроводник-металл, не превышающем 10 мА. Отметим, что при этом токе измеренная нами напряженность электрического поля на поверхности металлизированной пластины кремния для всех используемых нами металлов не превышала 3 В/м. Дальнейшее увеличение электрического тока через исследуемую структуру вплоть до перехода в режим лавинного пробоя могло сопровождаться значительным нагревом кремниевой пластины.

Для проведения экспериментов по антибактериальной активности по описанной выше методике изготавливались структуры 5×5 миллиметров на пластинах монокристаллического кремния размерами 20×10 миллиметров. Напряжение подавалось от лабораторного источника питания АКТАКОМ АТН-3335 через подпружиненные медные контакты на противоположные металлизированные плоскости кремниевой пластины.

Бактериальная культура *Salmonella* spp. была предоставлена ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им В. М. Горбатова». Ночную (18-часовую) бульонную культуру центри-

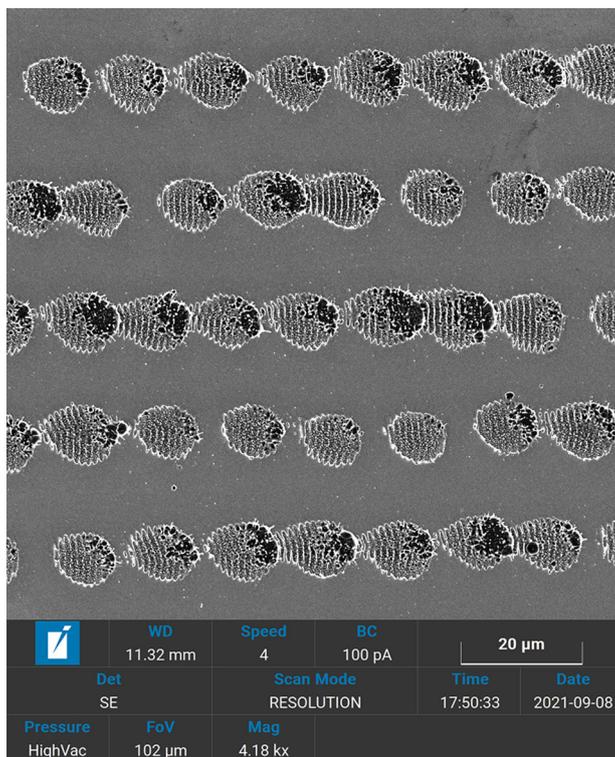


Рис. 2: СЭМ изображение наноструктурированной металлической (Pd) пленки на пластине кремния.

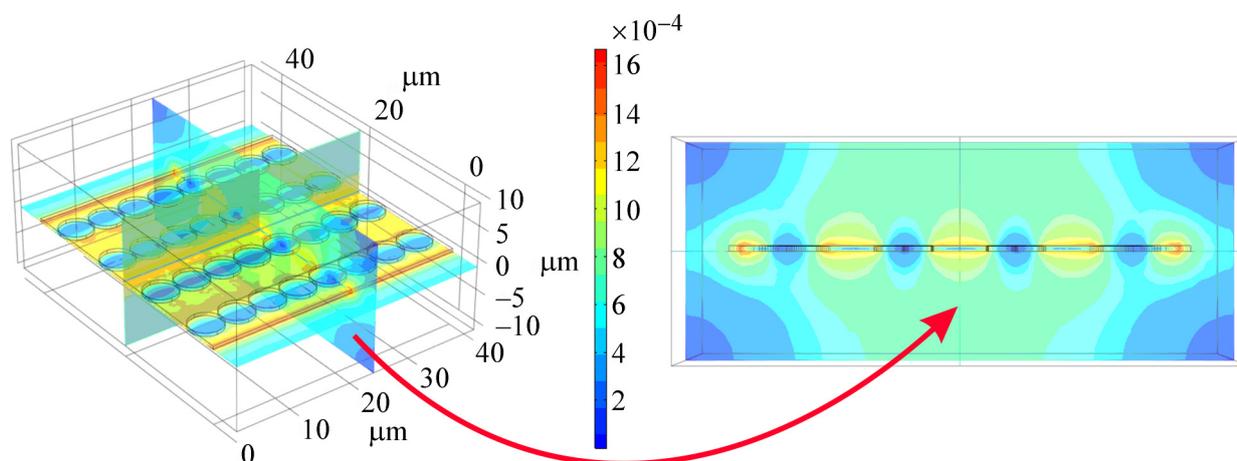


Рис. 3: Расчет напряженности магнитного поля (в условных единицах) над поверхностью наноструктурированной металлической пленки при протекании по ней постоянного электрического тока.

фугировали и удаляли супернатант. К осадку (осажденным бактериальным клеткам) добавляли дистиллированную воду и интенсивно встряхивали. Полученную суспензию разбавляли последовательными десятичными разведениями до 10^5 КОЕ/мл (колониеобразующая единица на миллилитр). На наноструктурированную металлическую пленку наносились исследуемые образцы в виде капель объемом 10 мкл и экспонировались в течение различных интервалов времени от 1 до 30 минут при заданном электрическом напряжении, а также, для дальнейшего сравнения, при нулевом электрическом напряжении. Часть экспериментов проводилась на гладких металлических пленках и, кроме того, при обратной полярности приложенного к структуре электрического напряжения. Эксперименты велись при начальной температуре образцов $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и при естественной дневной освещенности. В дальнейшем пластины с экспонированными образцами перемещались в отдельные стерильные пробирки с физиологическим раствором и интенсивно встряхивались 30 минут. Полученную суспензию титровали методом серийных разведений, высевали на плотную питательную среду и помещали в термостат при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Через сутки считали количество бактериальных колоний и определяли КОЕ/мл. Полученные значения для *Salmonella* spp. сравнивались с контрольными образцами.

Результаты и их обсуждение. Устойчивый высокий антибактериальный эффект на уровне, превышающем пять порядков КОЕ/мл, регистрировался при временах экспонирования бактериальных культур от 15 минут (рис. 4) и более, независимо от полярности приложенного электрического напряжения. Уменьшение времени экспонирования

до менее 10 мин приводило к быстрому исчезновению бактерицидных свойств исследуемых структур. Замена кремниевой подложки на стеклянную (в этом случае электрическое поле прикладывалось вдоль наноструктурированной металлической пленки для обеспечения заданного электрического тока 10 мА) также приводило к исчезновению антибактериального эффекта.

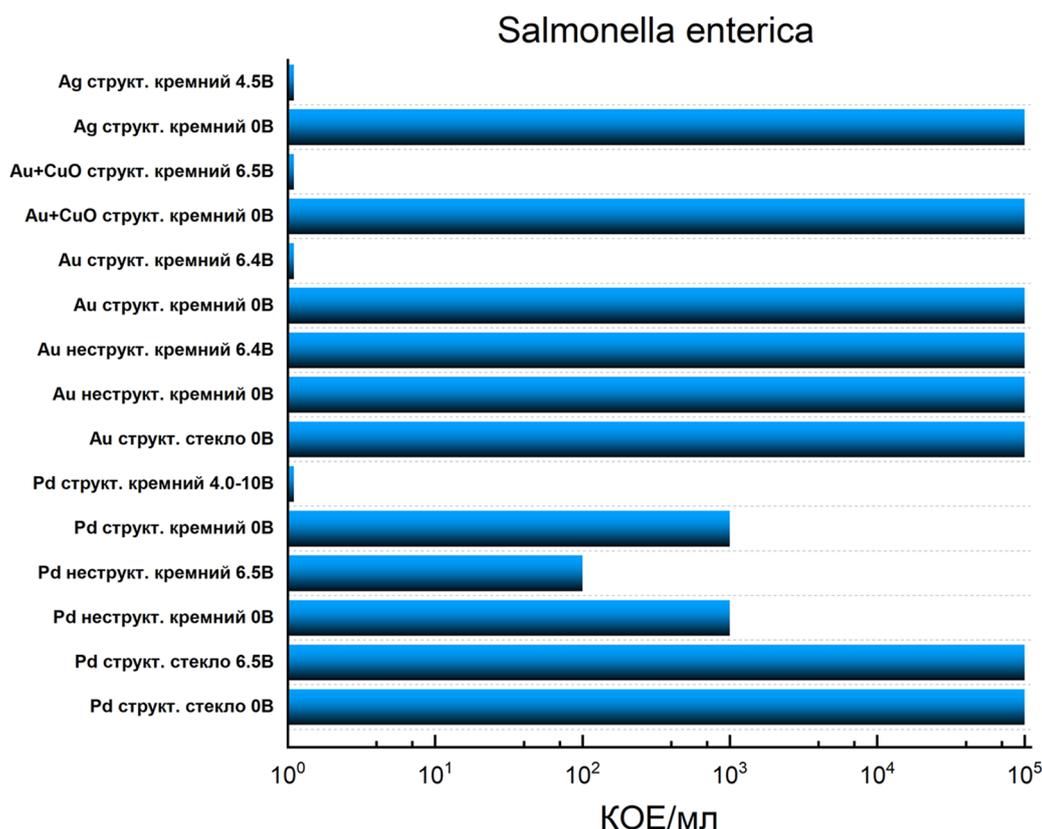


Рис. 4: Антибактериальная активность наноструктурированных пленок (структ.) на кремниевых (кремний) и стеклянных (стекло) подложках с серебряными (Ag), золотыми (Au), в том числе с дополнительным диэлектрическим напылением (Au+CuO), и палладиевыми (Pd) покрытиями с указанием приложенного к структуре электрического напряжения в вольтах. Также приведена антибактериальная активность для образцов с неструктурированными (неструкт.) металлическими пленками.

Стоит отметить, что для палладиевых неструктурированных пленок на кремниевых подложках нами наблюдался небольшой антибактериальный эффект на уровне двух порядков КОЕ/мл, увеличивавшийся при приложении к исследуемой структуре электрического напряжения 6.5 В еще на один порядок. Напыление на золотую на-

ноструктурированную пленку дополнительной тонкой (менее 500 нм) оксидной пленки меди, играющей в наших экспериментах роль непроводящего электрический ток покрытия, не приводило к уменьшению антибактериального эффекта, что позволяет сделать вывод, что бактерицидные свойства исследуемых структур не связаны с контактными электрическими взаимодействиями между заряженной металлической пленкой и бактериями.

Заключение. Таким образом, нами получен новый высокоэффективный бактерицидный материал на основе электрически слабозаряженных наноструктурированных металлических пленок на поверхности кристаллического кремния. Показано, что наличие у него бактерицидных свойств не зависит от вида используемого металла и не определяется контактными явлениями между заряженной металлической поверхностью и бактериями. При этом эксперименты показали, что определяющую роль в его бактерицидных свойствах играют записанная лазерным излучением на поверхности металлической пленки регулярная двухмерная структура с переменным удельным электрическим сопротивлением и наличие в нем перехода металл-полупроводник (барьера Шоттки). Дальнейшие исследования будут направлены на исследования эффективности полученного нами материала при взаимодействии с другими типами патогенных микроорганизмов и с образуемыми ими биопленками.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-25-00185).

Л И Т Е Р А Т У Р А

- [1] N. Miyazawa, S. Sakakibara, M. Hakamada, M. Mabuchi, *Scientific reports* **9**, 1091 (2019). DOI: 10.1038/s41598-018-37645-w.
- [2] M. Hakamada, S. Sakakibara, N. Miyazawa, et al., *Scientific reports* **10**, 9594 (2020). DOI: 10.1038/s41598-020-66504-w.
- [3] R. T. Tung, *Appl. Phys. Rev.* **1**, 011304 (2014). DOI: 10.1063/1.4858400.
- [4] A. A. Nastulyavichus, S. I. Kudryashov, I. N. Saraeva, et al., *Laser Phys. Lett.* **17**, 016003 (2019). DOI: 10.1088/1612-202X/ab4fe7.

Поступила в редакцию 13 декабря 2021 г.

После доработки 27 мая 2022 г.

Принята к публикации 30 мая 2022 г.