

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

УДК 541.6

**АТОМНО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ
ПОКРЫТИЙ, ОБРАЗУЕМЫХ ИЗ ПОЛИКАТИОНА И ЕГО
ВОДОРАСТВОРИМОГО КОМПЛЕКСА С ПОЛИАНИОНОМ**

**Владислава Алексеевна Пигарева¹, Анастасия Владимировна Большакова²,
Андрей Владимирович Сыбачин³**

¹⁻³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, кафедра высокомолекулярных соединений

Автор, ответственный за переписку: Владислава Алексеевна Пигарева,
vla_dislava@mail.ru

Аннотация: Исследована морфология и устойчивость покрытий, формируемых из полидиаллилдиметиламмоний хлорида, а также его комплекса с полистиролсульфонатом натрия, на поверхности стекла и поликарбоната. Установлено, что модификация поликатиона полианионом позволяет повесить устойчивость формируемых покрытий к смыванию водой, обеспечивая создание эффективных антибактериальных покрытий на различных поверхностях.

Ключевые слова: атомно-силовая микроскопия, интерполиэлектролитные комплексы, антибактериальные покрытия, полидиаллилдиметиламмоний хлорид, полистиролсульфонат натрия

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2023-64-3-265-269

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования (проект № 075-15-2020-775).

Для цитирования: Пигарева В.А., Большакова А.В., Сыбачин А.В. Атомно-силовая микроскопия антибактериальных покрытий, образуемых из поликатиона и его водорастворимого комплекса с полианионом // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. Т. 64. № 3. С. 265–269.

ORIGINAL ARTICLE

**ATOMIC FORCE MICROSCOPY OF ANTIBACTERIAL COATINGS
PRODUCED FROM POLYCATION AND ITS WATER-SOLUBLE COMPLEX
WITH POLYANION**

Vladislava A. Pigareva, Anastasia V. Bolshakova, Andrey V. Sybachin

Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University

Corresponding author: Vladislava A. Pigareva vla_dislava@mail.ru

Abstract. In this work, the morphology and stability of coatings formed from polydiallyldimethylammonium chloride, as well as its complex with sodium polystyrenesulfonate, on the surface of glass and polycarbonate were studied. It has been established that the modification of a polycation with a polyanion makes it possible to increase the resistance of the formed coatings to washing off with water, ensuring the creation of effective antibacterial coatings on various surfaces.

Keywords: atomic force microscopy, interpolyelectrolyte complexes, antibacterial coatings, polydiallyldimethylammonium chloride, sodium polystyrenesulfonate

Financial Support. This research was funded by Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, project No. 075-15-2020-775.

For citation: Pigareva V.A., Bolshakova A.V., Sybachin A.V. Atomic force microscopy of antibacterial coatings produced from polycation and its water-soluble complex with polyanion // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry. 2023. T. 64. № 3. S. 265–269.

В качестве функциональных покрытий, в том числе с антибактериальными свойствами [1, 2], широко используются полимеры, в особенности поликатионы, несущие положительный заряд в каждом мономерном звене, что обеспечивает их взаимодействие с отрицательно заряженными мембранами бактерий. Одним из таких поликатионов является полидиаллилдиметиламмоний хлорид (ПДАДМАХ), который обладает высокой противомикробной активностью [3]. Для увеличения адгезии гидрофильного поликатиона к поверхностям с различным гидрофильно/гидрофобным балансом необходимо модифицировать его гидрофобными блоками. Такая модификация может быть достигнута за счет формирования водорастворимого интерполиэлектролитного комплекса (ИПЭК) с полианионом, например, полистиролсульфонатом натрия (ПСС), который способен образовывать устойчивые водорастворимые ИПЭК с ПДАДМАХ в растворах с высокой ионной силой [4–6]. В литературе можно встретить работы, посвященные получению покрытий из полиэлектролитных комплексов исследуемых полимеров, формируемых методом послойного нанесения – поочередным опусканием подложки в растворы поликатиона и полианиона [7, 8]. Однако исследований получения покрытий из готового раствора водорастворимого ИПЭК ранее не проводилось. Такой способ получения антибактериальных покрытий более удобен для практического применения, поскольку позволяет сократить расход полимера, кроме того, не все поверхности можно обработать послойно.

Для изучения покрытий, в том числе их устойчивости к смыванию, хорошо подходит метод атомно-силовой микроскопии (АСМ), широко применяющийся для исследований полимерных покрытий, в том числе с антибактериальными свойствами [9–11]. Этот метод позволяет оценить равномерность и непрерывность образуемых покрытий, а также с высокой точностью определить их толщину. В настоящей работе с помощью метода АСМ исследовали возможность формирования покрытий на основе

ПДАДМАХ и ПСС, а также их устойчивость к смыванию водой.

Материалы и методы

В работе использованы полидиаллилдиметиламмоний хлорид (ПДАДМАХ) со средней молекулярной массой 400–500 кДа и полистиролсульфонат натрия (ПСС) со средней молекулярной массой 70 кДа («Sigma-Aldrich», США). Во всех экспериментах использовали бидистиллированную воду с проводимостью $0,05 \text{ мкСм} \cdot \text{см}^{-1}$.

Морфологию и толщину покрытий из поликатиона и ИПЭК определяли с помощью прибора «АСМ Multimode Nanoscope V» («Veeco», США) в полуконтактном и контактном режимах с использованием кантилеверов из поликремния с высокоточными составными зондами НА_FM («TipsNano», Россия) с резонансной частотой 76 кГц и добротностью около 300. В качестве подложек для экспериментов по атомно-силовой микроскопии использовали оптические боросиликатные стекла диаметром 1,5 см («Edmund Optics», США).

Толщину полимерного покрытия определяли с помощью скретч-теста (scratch-test) следующим образом. Сначала исходную морфологию покрытия исследовали в полуконтактном режиме, затем режим сканирования переключали в контактный и сканировали меньшую область (кадр $1 \times 1 \text{ мкм}$) в течение 10 мин со скоростью 10 Гц. При таких условиях покрытие «сметается» зондом с поверхности подложки, обнажая ее поверхность. После этого переходили на стандартный режим сканирования полимерных пленок (полуконтактный режим, скорость сканирования 2 Гц) и снимали вид покрытия в большем масштабе. В середине кадра наблюдали квадрат площадью $1 \times 1 \text{ мкм}$, с которого в ходе скретч-теста было удалено полимерное покрытие. Глубина квадрата постулировалась равной толщине покрытия. Эта методика позволяет с высокой степенью точности определить толщину нанесенного покрытия [12].

Гравиметрический анализ выполнен на весах «ВЛА-120 М» («Госметр», Россия). Для исследу-

дования полимерных покрытий в качестве подложек были выбраны покровные стекла и пластины из поликарбоната площадью $1,8 \times 1,8$ см, для которых методом определения краевого угла была определена смачиваемость. Перед экспериментом подложки тщательно очищали и обезжиривали. Известно, что поликатионы способны взаимодействовать с отрицательно заряженными поверхностями [13], поэтому была проведена активация стеклянной поверхности с помощью 1 М раствора КОН.

Эксперименты и результаты

Ранее было показано [6], что ПДАДМАХ способен образовывать растворимые в воде комплексы с ПСС до критического соотношения анионных и катионных групп полимеров $\chi = [\text{ПСС}]/[\text{ПДАДМАХ}] = 0,16$. Для дальнейшего исследования был выбран ИПЭК с $\chi = 0,12$ как комплекс с относительно высоким содержанием ПСС и высокой устойчивостью к фазовому расслоению в водно-солевых растворах.

Для начала методом АСМ были определены минимальные значения концентрации ПДАДМАХ и его комплекса с ПСС, необходимые для полного заполнения поверхности и образования сплошного покрытия. Концентрированные растворы последовательно разбавляли и разбавленный раствор в количестве, необходимом для полного заполнения поверхности, наносили на заранее очищенную подложку и высушивали на воздухе. Установлено, что при концентрации, равной $0,01 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ и выше, ПДАДМАХ и его комплекс с ПСС образуют сплошные покрытия на поверхности. Только при концентрации, равной $0,001 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$, происходит формирование отдельных «островков», высота которых в среднем составляет 6 нм (рис. 1). Таким образом, было установлено, что получение сплошных покрытий из ПДАДМАХ и его комплекса с

ПСС возможно при очень низких концентрациях полимера.

Для исследования устойчивости полимерных покрытий к смыванию водой были использованы покровные стекла и пластины из поликарбоната. С помощью метода определения краевого угла смачивания установлено, что стеклянная поверхность более гидрофильна (краевой угол смачивания ≈ 38 град.), чем поликарбонатная (краевой угол смачивания ≈ 85 град.). Таким образом, в ходе настоящей работы было проведено исследование устойчивости покрытий к смыванию с поверхностей с разной смачиваемостью.

Сначала методом гравиметрии была оценена устойчивость к смыванию полимерных покрытий со стеклянной поверхности. Свежеочищенную подложку взвешивали, затем 200 мкл раствора полимера или ИПЭК с концентрацией $20 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ наносили на подложку так, чтобы вся поверхность была покрыта раствором, а затем сушили на воздухе. Далее образец еще раз взвешивали и рассчитывали массу пленки как разность значений массы подложки с покрытием и чистой подложки. Циклы смывания проводили следующим образом: на подложку наносили объем воды так, чтобы она полностью покрывала поверхность полимерной пленки. После двух минут инкубации жидкость удаляли, а образец оставляли сохнуть. Образец взвешивали и рассчитывали потерю массы. Результаты представлены на рис. 2, а. Для покрытия из ПДАДМАХ около 70% потери веса наблюдалось после первого цикла смывания, а после четырех циклов покрытие перестало фиксироваться на поверхности гравиметрически. Напротив, покрытие из ИПЭК с $\chi = 0,12$ сохраняло около 60% массы своей пленки после первого цикла смывания и 10% после четырех циклов, и только после шести циклов за наличием покрытия стало трудно следить с помощью гравиметрии.

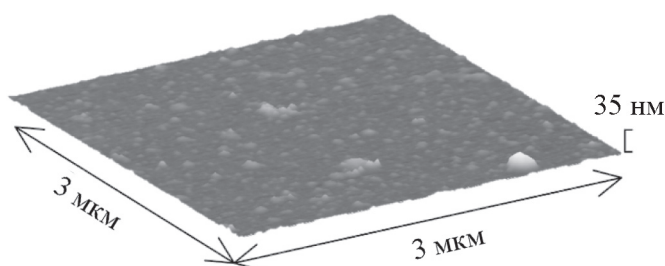


Рис. 1. АСМ-изображение покрытия, полученного из раствора ИПЭК с концентрацией $0,001 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ на стеклянной поверхности

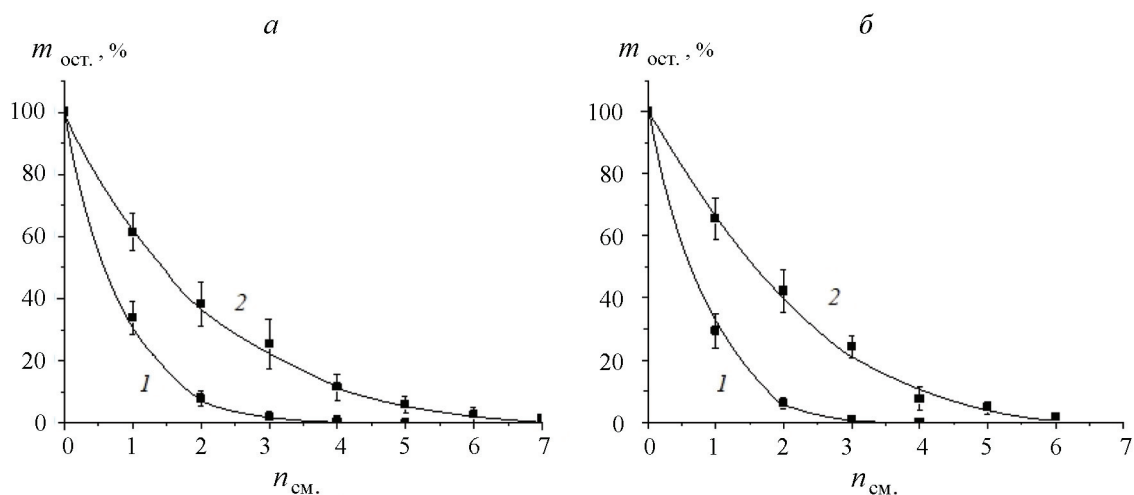


Рис. 2. Зависимость оставшейся массы пленок ($m_{\text{ост.}}, \%$), сформированных из ПДАДМАХ (1) и ИПЭК (2) на поверхности стекла (а) и поликарбоната (б), от числа циклов смывания ($n_{\text{см.}}$)

Затем аналогичный эксперимент был проведен с использованием в качестве менее гидрофильной подложки пластины из поликарбоната. Следует отметить, что ИПЭК образовывал сплошные покрытия по всей площади подложки, в то время как гидрофильный ПДАДМАХ хуже растекался на поликарбонатной поверхности. Из рис. 2, б видно, что покрытия, сформированные из ИПЭК на пластине из поликарбоната, оказались более устойчивыми к смыванию, чем покрытия из ПДАДМАХ. Так, масса пленки из поликатиона перестала фиксироваться гравиметрически уже после третьего цикла смывания, а за массой ИПЭК все еще можно было следить до шестого цикла.

Для подтверждения полученных методом гравиметрии результатов, а также для более точной оценки устойчивости к смыванию покрытий из ПДАДМАХ и его ИПЭК с помощью метода АСМ была оценена толщина полимерных покрытий, остающихся после определенного чис-

ла циклов. Сначала по описанной выше методике были приготовлены покрытия из ПДАДМАХ и его комплекса с ПСС, затем были проведены четыре цикла смывания водой. Методом АСМ было установлено, что после четвертого цикла смывания и для ПДАДМАХ, и для ИПЭК на поверхности продолжало фиксироваться покрытие. С помощью скретч-теста установлено, что покрытие из ИПЭК обладает большей толщиной после четвертого цикла смывания, чем покрытие из ПДАДМАХ. Из этого следует, что гидрофобизация данного поликатиона с помощью ПСС повышает устойчивость к смыванию образуемых покрытий. Так, толщина покрытия из ПДАДМАХ (рис. 3) после четвертого цикла смывания составляла порядка 100 нм, в то время как покрытие из ИПЭК обладало толщиной свыше 300 нм.

Эксперимент проводили также с покрытиями, подвергшимся шести циклам смывания. Установлено, что после шести циклов смывания

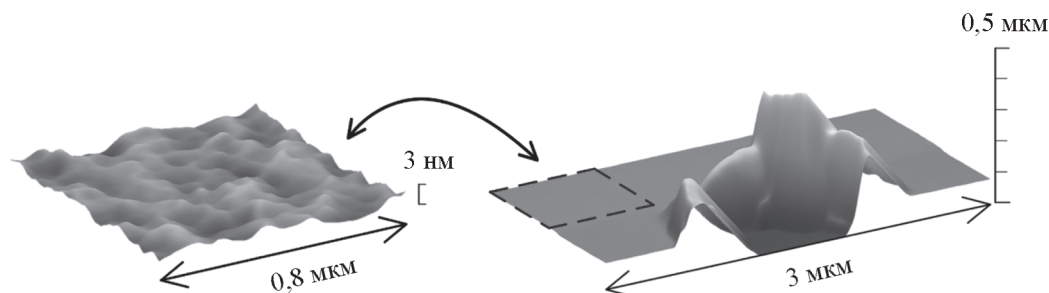


Рис. 3. АСМ-изображение покрытия из ПДАДМАХ после четырех циклов смывания, полученное в результате скретч-теста

водой покрытия из ПДАДМАХ и ИПЭК все еще продолжают фиксироваться на поверхности, при этом покрытие из ИПЭК обладает средней толщиной пленки, превышающей среднюю толщину покрытия из поликатиона.

Заключение

В ходе работы установлено, что модификация ПДАДМАХ противоположно заряженным ПСС приводит к увеличению устойчивости к смыванию покрытий, формируемых из положительно заряженного водорастворимого ИПЭК с соотношением анионных и катионных групп полимеров $\chi = 0,12$. Это относится как к гидрофильной стеклянной поверхности, так и

к менее гидрофильной поверхности из поликарбоната. Методом АСМ продемонстрировано, что формирование непрерывных покрытий из ПДАДМАХ и ИПЭК на его основе возможно из растворов, концентрация которых превышает $0,001 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$. При этом АСМ позволяет регистрировать сплошные покрытия из поликатиона и его ИПЭК, которые сохраняются после нескольких циклов смывания, когда регистрировать их наличие гравиметрически становится невозможным. В ходе скретч-теста установлено, что при идентичности числа циклов смывания средняя толщина покрытия из ИПЭК превышает среднюю толщину покрытия из индивидуального поликатиона.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jiaying L., Ameya K.B., Gerard van E. et al. // Coll. Surf. A: Physicochem., Eng. Aspects, 2022. Vol. 648. P. 129143.
2. Pinho, A.C., Piedade, A.P. // Polymers. 2020. Vol. 12. 2469.
3. Rennan dos S., Juan G., Nilton L., Denise P. et al. // Pesqui. Bras. Odontopediatria Clín. Integr. 2019. Vol. 19. P. e3962.
4. Izumrudov V.A., Sybachin A.V. // Polym. Sci. Ser. A. 2006. Vol. 48. N 10. P. 1098.
5. Li H., Fauquignon M., Haddou M., Schatz C. // Polymers. 2021. Vol. 13. P. 3848.
6. Pigareva V., Senchikhin I., Bolshakova A., Sybachin A. // Polymers. 2022. Vol. 14. P. 1247.
7. Annie Y., Mazrul S. // Materials Today: Proceedings, 2021. Vol. 41. Part 1. P. 9.
8. Sun-Ju Y., Jong Y., Se-Hui J. et al. // Mol. Cells. 2003. Vol. 15. P. 333.
9. Pigareva V., Stepanova D., Bolshakova A. et al. // Mend. Com. 2022. Vol. 32. N 4. P. 561.
10. Bohinc K., Bajuk J., Jukić J. et al. // Int. J. Adhesion and Adhesives. 2020. Vol. 103. P. 102687.
11. Guzmán E., Maestro A., Llamas S. et al. // Beilstein J. Nanotechnol. 2016. Vol. 7. P. 197.
12. Senchikhin I.N., Zaitseva A.V., Zakharova V.A. et al. // Colloid J. 2020. Vol. 82. P. 584.
13. Yaroslavov A.A., Efimova A.A., Sybachin A.V. et al. // Colloid J. 2011. Vol. 73. P. 430.

Информация об авторах

Пигарева Владислава Алексеевна – аспирант кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (vla_dislava@mail.ru);

Большакова Анастасия Владимировна – ст. науч. сотр. кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. физ.-матем. наук (nastya@polly.phys.msu.ru);

Сыбачин Андрей Владимирович – доцент кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова, канд. хим. наук (sybatchin@mail.ru).

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 08.11.2022

Одобрена после рецензирования 20.12.2022

Принята к публикации 26.01.2023