

Ланцова Елизавета Александровна

Кремнийсодержащие биогибридные материалы, формируемые с участием клеток микроорганизмов, для применения в экологии и биомедицине

Шифр специальности – 1.4.9 – Биоорганическая химия

Химические науки

Шифр диссертационного совета 24.1.092.01

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук

119991, Москва, Ленинский проспект, 47

Тел.:(499) 137-13-79

E-mail: sci-secr@ioc.ac.ru

Дата размещения полного текста диссертации на сайте Института

<http://zioc.ru/>

15 июля 2026 года

Дата приема к защите

8 сентября 2026 года

Дата размещения автореферата на сайте ВАК <https://vak.gisnauka.ru/>

9 сентября 2026 года

На правах рукописи



Ланцова Елизавета Александровна

**КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩИЕ БИОГИБРИДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ,
ФОРМИРУЕМЫЕ С УЧАСТИЕМ КЛЕТОК МИКРООРГАНИЗМОВ,
ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЭКОЛОГИИ И БИОМЕДИЦИНЕ**

1.4.9 Биоорганическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Тула, 2026

Работа выполнена в лаборатории биологически активных соединений и биокмполитов Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тульский государственный университет»

Научный руководитель:	Каманина Ольга Александровна кандидат химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Управления научно-исследовательских работ Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тульский государственный университет»
Официальные оппоненты:	Коршун Владимир Аркадьевич доктор химических наук, заведующий лабораторией молекулярного дизайна и синтеза ГНЦ, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук Щипунов Юрий Анатольевич член-корреспондент РАН, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией коллоидных систем и межфазных процессов, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии Дальневосточного отделения Российской академии наук
Ведущая организация:	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук

Защита состоится «25» ноября 2026 года, в 11:00 на заседании диссертационного совета 24.1.092.01 в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении науки Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН по адресу: 119991, г. Москва, Ленинский проспект, д. 47, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ИОХ РАН и на сайте (<https://zioc.ru/>). Автореферат размещен на официальном сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации (<https://vak.gisnauka.ru/>).

Автореферат разослан «___» _____ 2026 года.

Ваш отзыв в двух экземплярах, заверенный гербовой печатью, просим направлять ученому секретарю диссертационного совета 24.1.092.01 по адресу: 119991, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, 47.

Учёный секретарь
Диссертационного совета
24.1.092.01 ИОХ РАН



д.х.н. Газиева Г. А.

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования. Золь-гель технология является одним из широко применяемых и технологически гибких методов для создания современных биокатализаторов и пористых материалов-носителей. Возможность переходить от растворов предшественников к золям и гелям позволяет формировать широкий диапазон материалов: наночастиц, тонких пленок, керамики, гидрогелей или аэрогелей, многокомпонентных гибридных органо-неорганических материалов. Полученные золь-гель методом материалы используются в катализе, колонках высокоэффективной жидкостной хроматографии, биосенсорах, фотонных устройствах, в качестве анода в батареях для накопления энергии, для адсорбции тяжелых металлов, обеззараживания окружающей среды, в матрицах для доставки лекарств и их контролируемой десорбции. Особый интерес вызывает инкапсулирование живых клеток в кремнийорганические материалы, получаемые золь-гель методом. Такие системы способны не только сохранять активность клеток, но и обеспечивать их защиту от механических, температурных и биологических воздействий. Данный подход сочетает такие преимущества инкапсулирования как высокая механическая и термическая стабильность, устойчивость к набуханию в воде и органических растворителях, а также совместимость с биологическим материалом. Реакции синтеза протекают в мягких условиях при комнатной температуре и физиологических значениях pH, что позволяет сохранять дыхательную активность клеток в течение длительного времени. Способность микроорганизмов окислять широкий спектр органических соединений позволяет использовать биогибридные материалы для создания высокочувствительных биосенсоров, предназначенных для выявления и количественного анализа природных токсикантов в водных средах. Такие устройства находят применение для мониторинга состояния окружающей среды и биологической очистки водных ресурсов, обеспечивая более высокую стабильность и длительность функционирования по сравнению с системами, использующими свободные клетки. Это создает предпосылки для разработки устойчивых и воспроизводимых биотехнологических процессов с участием иммобилизованных клеток, обладающих продолжительной каталитической активностью.

Один из методов получения пористых кремнийсодержащих материалов основан на формировании полимерного материала вокруг шаблонов (темплатов), которые химически или термически удаляют на финальной стадии синтеза. Зачастую традиционные темплаты (сферические частицы, полимерные матрицы) обеспечивают высокую удельную поверхность, но недостаточный диаметр пор для сорбции и последующей десорбции крупных разветвленных и/или длинноцепочечных молекул активных веществ из-за возникающих стерических затруднений. Альтернативным видом шаблонов выступают клетки микроорганизмов, благодаря стабильности размеров и повторяемости морфологии.

Инкапсулирование клеток в кремнийорганические оболочки позволяет использовать микроорганизмы в качестве шаблонов и после их отжига может приводить к формированию пористых материалов-носителей (загрузочных материалов) для получения антимикробных систем с длительным действием и эффективным контролируемым расходом активного соединения. Таким образом, применение клеток микроорганизмов для создания функциональных кремнийсодержащих материалов является актуальной задачей, направленной на решение экологических проблем, связанных с загрязнением окружающей среды, а также на разработку высокоэффективных биотехнологических процессов получения и применения функциональных наноматериалов.

Цель: разработка подходов к синтезу и исследованию биогибридного кремнийсодержащего материала, сформированного с использованием клеток микроорганизмов, и его применение в экологии и биомедицине.

Задачи:

1. Синтезировать и охарактеризовать биогибридные кремнийсодержащие материалы, на основе метилтриэтоксисилана и тетраэтоксисилана при использовании дрожжевых клеток *Ogataea polymorpha* BKM Y-2559, *Blastobotrys adeninivorans* BKM Y-2677, *Debaryomyces hansenii* BKM Y-2482.

2. Изучить применимость полученных биогибридных материалов в составе биосенсоров для определения индекса биохимического потребления кислорода.

3. Используя клетки микроорганизмов в качестве шаблонов синтезировать пористый кремнийсодержащий материал и охарактеризовать его после термической обработки физико-химическими методами, а также определить сорбцию/десорбцию октенидина дигидрохлорида.

4. Изучить антисептическую эффективность кремнийсодержащего материала, демонстрирующего максимальную десорбцию октенидина.

Научная новизна:

Показана возможность использования смешанной культуры дрожжей (*O. polymorpha*, *B. adeninivorans*, *D. hansenii*) для получения золь-гель методом иерархически структурированного кремнийорганического материала с возможностью применения его в составе биосенсора для определения биохимического потребления кислорода (БПК) при экологическом мониторинге. Установлено, что соотношение силановых предшественников при иммобилизации микроорганизмов влияет на внутриспоровые диффузионные ограничения и доступность субстратов для клеток микроорганизмов. Показано, что использование материала с наименьшей степенью конденсации органосилоксановых мономеров позволяет получить лучшие характеристики биосенсора, включая повышенную чувствительность, расширенный диапазон определяемых концентраций и улучшенную стабильность.

Впервые синтезированы и охарактеризованы пористые кремнийсодержащие материалы, полученные в результате отжига бишаблонов, а именно дрожжевых (*Ogataea polymorpha* ВКМ У-2559) и бактериальных (*Paracoccus yeii* ВКМ В-3302) клеток. Такой подход позволяет синтезировать материал с двухстадийной десорбцией октенидина, где имеет место начальный быстрый массоперенос и последующая замедленная диффузия, подчиняющаяся законам Фика.

Теоретическая и практическая значимость работы:

Полученные в работе результаты позволяют расширить знания о биогибридных материалах, сформированных при иммобилизации микроорганизмов в кремнийсодержащие оболочки. Предложенные подходы синтеза кремнийсодержащих материалов дают возможность изменять их пористость, удельную площадь поверхности, а также сорбционные и десорбционные характеристики. Установлено, что иммобилизация смеси дрожжевых клеток в кремнийорганические материалы позволяет получить рецепторные элементы биосенсоров для экспресс-определения биохимического потребления кислорода в поверхностных и сточных водах.

Кроме того, синтезированные пористые силикатные материалы, сформированные с помощью микроорганизмов в качестве бишаблонов, демонстрируют сопоставимые или более высокие показатели сорбции и десорбции антисептика по сравнению с известным аналогом. Технология может быть адаптирована для получения эффективных антимикробных материалов пролонгированного действия. Продемонстрировано длительное подавление фитопатогенных бактерий и быстрое ингибирование клинически значимых патогенных микроорганизмов.

Достоверность результатов и выводов обеспечена использованием современных методов анализа (сканирующая и просвечивающая электронные микроскопии, спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР), метод низкотемпературной адсорбции-десорбции азота, рентгенофазовый анализ и др.) для описания полученных гибридных материалов. Достоверность результатов и выводов обеспечена апробацией результатов исследований в форме докладов на профильных научных конференциях и публикацией результатов исследования в профильных рецензируемых научных изданиях.

Апробация работы.

Результаты диссертационного исследования опубликованы в 3 международных рецензируемых научных изданиях и прошли апробацию в форме докладов на всероссийских и международных научных конференциях:

II Международная конференция молодых ученых: биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов, молекулярных биологов и специалистов фундаментальной медицины в рамках площадки открытых коммуникаций OpenBio, Кольцово, 24-27 сентября 2025 года.

X Международная молодежная научно-практическая конференция «Горизонты биофармацевтики», КГМУ, Курск, 12 мая 2025 года.

Научная конференция-школа «Новые горизонты катализа и органической химии», ИОХ, г. Москва, 28-30 апреля 2025 года.

XXXI Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов», МГУ, Москва, 12-26 апреля 2024 года.

Седьмая международная конференция стран СНГ золь-гель синтез и исследование неорганических соединений, гибридных функциональных материалов и дисперсных систем «Золь-гель 2023», ИОНХ РАН, Москва, 28 августа – 1 сентября 2023 года.

Положения, выносимые на защиту.

1. Клетки дрожжей выступают биологическими шаблонами, вокруг которых формируется пористая и проницаемая кремнийорганическая структура, подходящая для использования инкапсулированных микроорганизмов как рецепторных элементов биосенсоров.

2. Использование метилтриэтоксисилана и тетраэтоксисилана в объемном соотношении 85/15 об.% обеспечивает инкапсулирование смеси дрожжей *O. polymorpha*, *B. adenivorans*, *D. hansenii* с наименьшей степенью конденсации органосилоксановых мономеров и наибольшим количеством макропор, позволяя осуществлять быстрый массоперенос и получить чувствительный БПК-биосенсор за счет широкой субстратной специфичности клеток.

3. Возможность формирования кремнийорганической оболочки вокруг клеток микроорганизмов открывает путь к их использованию в качестве биологических шаблонов для получения пористых кремнийсодержащих материалов.

4. Температура отжига кремнийсодержащих материалов, полученных с использованием клеток микроорганизмов в качестве биотемплатов, определяет особенности фазового состава, морфологии и поверхностных свойств полученных материалов, что оказывает влияние на сорбцию и последующую десорбцию октенидина дигидрохлорида. При достижении 800 °С происходит изменение морфологии в связи с переходом от аморфного материала к α -кристобалиту, ζ -потенциал достигает максимального по модулю значения среди материалов, полученных с иными температурами отжига, улучшаются сорбционные и десорбционные свойства.

5. Применение в качестве шаблона клеток бактерий *P. yeai* позволяет получить пористый материал, который обеспечивает десорбцию октенидина дигидрохлорида с кратковременным эффектом выброса и пролонгированным высвобождением.

6. Антимикробный кремнийсодержащий материал, полученный с использованием клеток бактерий в качестве биотемплатов и содержащий сорбированный октенидина дигидрохлорид, проявляет высокую эффективность против фитопатогенных бактерий *Rhodococcus fascians* Ac-1462 и ключевых патогенов человека, включая *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC

27853, *Acinetobacter baumannii* ATCC 15308, *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Candida auris* F-2035.

Личный вклад соискателя состоит в разработке методики получения гибридного биокатализатора на основе смеси дрожжей и пористых кремнийсодержащих материалов на основе бактерий *P. yeai* и дрожжей *O. polymorpha*, а также большей части работы по его описанию, в том числе приготовлении материалов и выполнении анализов. Соискатель выполнил большую часть синтетических и кинетических экспериментов, интерпретировал и обобщил значительную часть экспериментальных данных, провёл анализ научной литературы, подготовил публикации. Активно участвовал в написании научных статей. Лично участвовал в апробации результатов научной работы на всероссийских и международных конференциях.

Структура работы. Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, выводов и списка литературы, включающего 273 источника. Материал диссертации изложен на 129 страницах машинописного текста, включает 41 рисунок, 7 схем и 15 таблиц.

Основное содержание работы Обсуждение результатов

1. Синтез и характеристика биогибридного материала на основе смеси дрожжей для применения в составе БПК-биосенсора

Для разработки биогибридного материала для применения в составе биосенсора смесь клеток дрожжей *O. polymorpha* ВКМ Y-2559, *B. adenivorans* ВКМ Y-2677 и *D. hansenii* ВКМ Y-2482 иммобилизована в материалы на основе метилтриэтоксисилана (МТЭС) и тетраэтоксисилана (ТЭОС) с различным объемным составом, в качестве структуроуправляющего агента использован поливиниловый спирт (ПВС). Выбранные микроорганизмы обладают широкой субстратной специфичностью и устойчивостью к неблагоприятным факторам среды, что способствует повышению точности и стабильности аналитического сигнала биосенсора. Формирование органосиликатной оболочки происходит за счет последовательных реакций гидролиза (Схема 1) и поликонденсации (Схема 2).

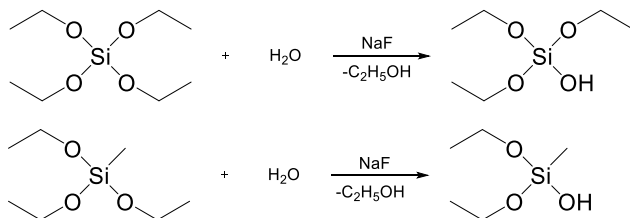


Схема 1. Реакции гидролиза для ТЭОС и МТЭС

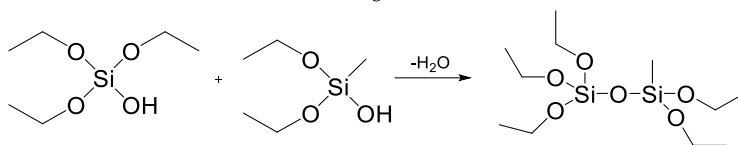


Схема 2. Реакция поликонденсации

Исследована морфология получаемых материалов методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (Рисунок 1). При содержании МТЭС 10 и 50 об. % (Рисунок 1А,Б) клетки покрыты монолитной структурой.

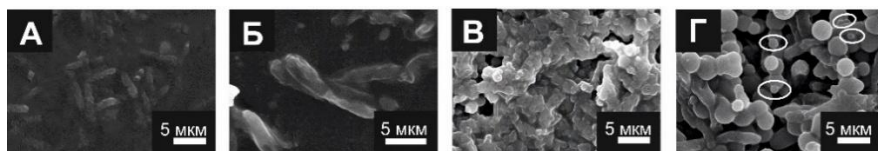


Рисунок 1. СЭМ изображения золь-гель материалов на основе инкапсулированных дрожжей *O. polymorpha*, *B. adeninivorans*, *D. hansenii* при использовании соотношений МТЭС/ТЭОС: а – 10/90, б – 50/50, в – 85/15, г – 90/10 об. %

При содержании МТЭС 85 об. % (Рисунок 1В) клетки дрожжей инкапсулированы и погружены в толщу материала. При соотношении МТЭС/ТЭОС 90/10 об. % (Рисунок 1Г) наблюдаются отдельные микроорганизмы, не инкапсулированные в золь-гель материал, что может негативно сказаться на долговременной стабильности работы микроорганизмов. При внесении большего количества МТЭС наблюдается формирование менее компактной органосиликатной структуры. Видны места деления дрожжевых клеток (на Рисунке 1Г выделены белыми овалами).

Для оценки зависимости между соотношением алкоксисилановых и алкилалкоксисилановых предшественников и степенью конденсации, числом образовавшихся связей Si-O-Si и соотношением мономеров в материале был применен метод твердотельной ЯМР спектроскопии на ядрах ^{29}Si (Рисунок 2). Для образцов с содержанием МТЭС 0 об. %, 50 об. % и 100 об. % степень конденсации очень близка (0,93–0,95). Однако для образца с соотношением МТЭС/ТЭОС 85/15 об. % степень конденсации ниже, чем для остальных образцов.

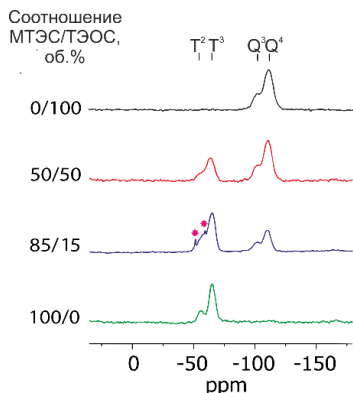


Рисунок 2. Спектры ЯМР ^{29}Si кремнийорганических материалов

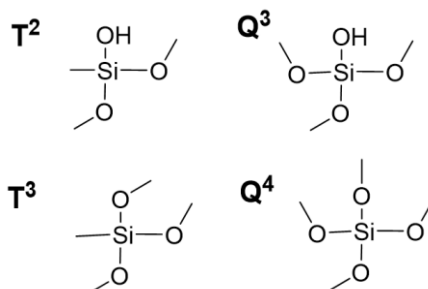


Схема 3. Структурные формулы три- и тетрафункционального кремния

Различия в скоростях гидролиза и конденсации ТЭОС и МТЭС приводят к конкуренции Q–Q, Q–T и T–T взаимодействий (T^i – трифункциональный кремний, Q^i – тетрафункциональный кремний, i – число мостиков Si–O–Si (Схема 3)), что вызывает структурную неоднородность и увеличение доли частично конденсированных T^2 -фрагментов. При дальнейшем увеличении содержания МТЭС (до 100 об. %) система становится химически более однородной, конкуренция Q- и T-узлов устраняется, и формируется более регулярная T-сетка. Это говорит о наличии значительного количества мономеров в материале, который содержит 85 об. % МТЭС и о сохранении в структуре большого количества неконденсированных силанольных групп и меньшей степени формирования трёхмерной силоксановой сетки, приводит к увеличению объёма макропор и, как следствие, улучшенной диффузии, что полезно для применения получаемого материала в биосенсорах. Этот материал характеризуется наименьшим значением модуля Тиле, что свидетельствует об наименее выраженных внутрипоровых диффузионных ограничениях в кремнийорганической матрице по сравнению с другими изученными в работе материалами и говорит о большей доступности иммобилизованных клеток для субстрата. Увеличение доли макропор в материале, полученном при использовании 85 об. % МТЭС, показано методом низкотемпературной адсорбции-десорбции азота (Рисунок 3). Высказано предположение, что для данного материала будут отличаться параметры чувствительности биорецепторного элемента от соответствующих параметров, полученных для других исследуемых материалов.

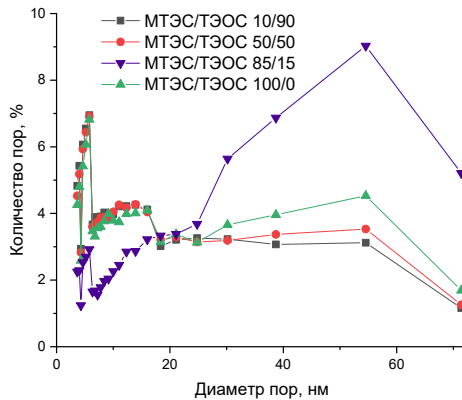


Рисунок 3. Распределение пор по размеру и их относительная численность

Для выбора наиболее подходящего состава материала для иммобилизации смеси дрожжевых клеток были исследованы аналитические и метрологические характеристики биосенсоров на основе инкапсулированных микроорганизмов. Измерения проводили с использованием кислородного электрода Кларка, конструкция которого представлена на рисунке 4, а протекающие на электроде процессы показаны на схеме 4.



Рисунок 4. Кислородный электрод Кларка

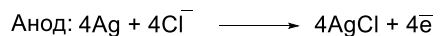
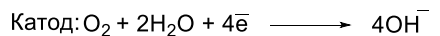


Схема 4. Реакции, протекающие на платиновом электроде (катоде) и хлоридсеребряном электроде (анод)

Градуировочные зависимости отклика биосенсоров от концентрации глюкозо-глутаматной смеси (применяется для имитации состава сточных вод при определении биохимического потребления кислорода (БПК)) описываются уравнением Михаэлиса-Ментен, поскольку биологический ответ в системе обеспечивается ферментативными реакциями (Рисунок 5А). Для снижения погрешности измерений и обеспечения корректного аналитического определения концентрации анализируемого вещества использовали линейный участок, верхняя граница которого соответствует константе Михаэлиса (Рисунок 5Б).

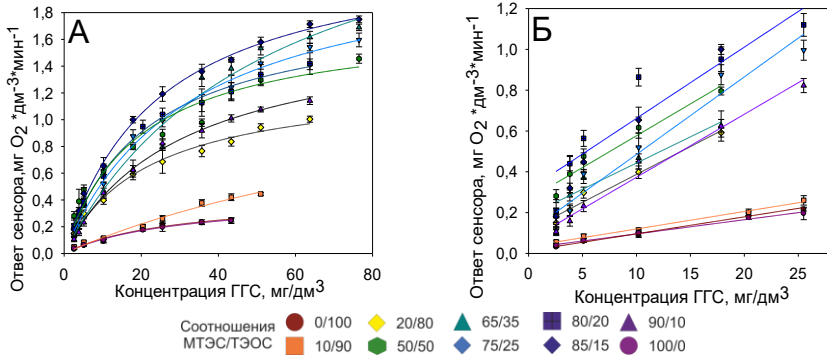


Рисунок 5. А - Градуировочные зависимости ответов биосенсоров с иммобилизованными клетками дрожжей от концентрации глюкозо-глутаматной смеси (ГГС) Б - Начальные участки градуировочных кривых.

Биосенсор на основе материала с соотношением МТЭС/ТЭОС 85/15 об. % характеризуется большей чувствительностью по сравнению с образцами с другими соотношениями алкоксисилановых и алкилалкоксисилановых предшественников, поскольку имеет наибольшее значение коэффициента чувствительности и наименьшее значение нижней границы определяемых концентраций (Рисунок 6). Значительное содержание мезо- и макропор улучшает массообменные процессы одновременно для поступления субстрата и отведения продуктов реакции от иммобилизованных дрожжевых клеток.

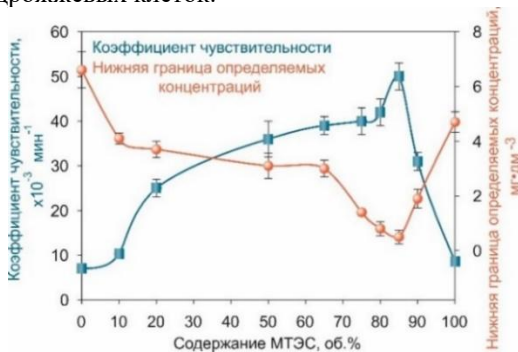


Рисунок 6. Значения параметров чувствительности биосенсоров в зависимости от содержания МТЭС

БПК-биосенсор, полученный при использовании в качестве рецепторного элемента смеси дрожжей *O. polymorpha*, *B. adenivorans*, *D. hansenii*, инкапсулированных в золь-гель материал, превосходит по характеристикам чувствительности и операционной стабильности работы БПК-биосенсор на основе смеси дрожжей, иммобилизованной в гидрогель ПВС, модифицированный *N*-винилпирролидоном (Таблица 1).

Таблица 1. Сравнение характеристик биосенсоров на основе иммобилизованной смеси дрожжей

Характеристика биосенсора	Иммобилизация смеси дрожжей в	
	золь-гель материал на основе МТЭС, 85 об. %	гидрогель ПВС, модифицированный <i>N</i> -винилпирролидоном (Yudina N. Et al., 2015)
Коэффициент чувствительности, 10^{-3} мин^{-1}	50±3	0,17 ±0,03
Диапазон определяемых концентраций, мг·дм ⁻³	0,5–31,0	2,4-80,0
Долговременная стабильность, сутки	25	17
Относительное стандартное отклонение, %	3,8	8,9

При использовании иммобилизованных дрожжей в качестве рецепторного элемента биосенсора для определения БПК важно, чтобы клетки микроорганизмов окисляли широкий спектр органических веществ.

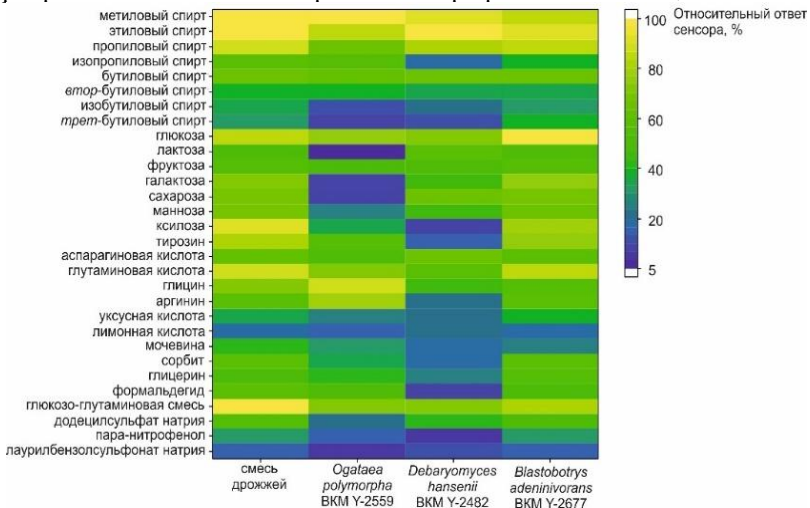


Рисунок 7. Профиль субстратной специфичности для иммобилизованной в золь-гель материал МТЭС/ТЭОС 85/15 смеси дрожжей и свободных клеток

Инкапсулированные дрожжи эффективно метаболизируют спирты, сахара, аминокислоты, органические кислоты и ПАВ, характерные для промышленных и бытовых сточных вод, что обеспечивает высокую точность анализа (Рисунок 7). Ранее мы высказали предположение, что в золь-гель материале клетки микроорганизмов пространственно разобщены, что снижает

степень прямых межклеточных взаимодействий и минимизирует ингибирующие воздействия. В результате формируется метаболически взаимодополняющая смесь микроорганизмов, в которой суммарная эффективность окисления субстратов определяется вкладом наиболее активного штамма, обеспечивая более полную и эффективную биотрансформацию по сравнению с отдельными культурами.

Полученный биосенсор был использован для определения индекса БПК в образцах поверхностных вод. В качестве референтного был применен стандартный метод определения БПК₅, при котором исследуемый образец воды инкубируют в течение 5 суток. Полученные значения индекса БПК, которые были определены с использованием биосенсорного и стандартного метода, незначимо отличаются между собой.

Замена МТЭС на (3-аминопропил)триэтоксисилан (АПТЭС) приводит к уплотнению структуры кремнийорганических матриц и ухудшению морфологии, что затрудняет диффузию субстратов и снижает эффективность иммобилизации клеток. Даже при оптимальном содержании 5 об. % АПТЭС полученные биосенсоры демонстрируют сравнительно невысокие показатели чувствительности по сравнению с материалами на основе МТЭС. Таким образом, использование АПТЭС ограничено из-за ухудшения функциональных характеристик и требует дополнительной модификации для практического применения.

Использование алкоксисилановых и алкилалкоксисилановых предшественников в соотношении МТЭС/ТЭОС 85/15 об. % позволило получить биокатализатор, эффективно функционирующий в составе рецепторного элемента биосенсоров. Такой БПК-биосенсор можно использовать для экологического мониторинга загрязнения сточных вод. Инкапсулирование клеток микроорганизмов в кремнийорганические материалы открывает возможность их применения в качестве шаблонов для формирования пористых носителей. Поскольку кремнийорганический каркас характеризуется высокой механической прочностью, термической стабильностью и химической устойчивостью, можно предположить, что удаление клеточного компонента с сохранением структуры материала позволит получить развитый пористый композит. Такие материалы представляют интерес в качестве носителей для биомедицинских применений, что обусловлено их потенциальной биосовместимостью, высокой удельной поверхностью и возможностью иммобилизации биологически активных соединений.

2. Синтез с использованием клеток микроорганизмов в качестве шаблонов и характеристика пористого кремнийсодержащего материала как загрузочной платформы для октенидина дигидрохлорида

Высказано предположение, что в формировании органосиликатной структуры участвуют функциональные группы (фосфатные, гидроксильные, карбоксильные) на поверхности клеток микроорганизмов (Рисунок 8). Для

наружной мембраны грамотрицательных бактерий характерны гидроксильные, фосфатные, карбоксильные и аминогруппы, для клеточной стенки дрожжей – гидроксильные, карбоксильные, тиоловые, амидные и аминогруппы, что может объяснять различия в соотношениях силановых предшественников, необходимых для эффективного инкапсулирования.

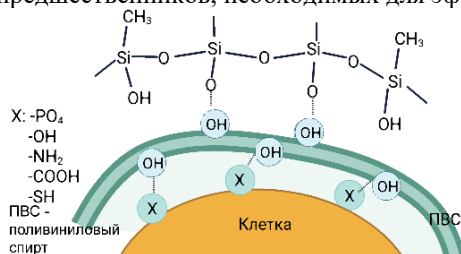


Рисунок 8. Схематичное изображение формирования кремнийорганической оболочки около поверхности клетки микроорганизма

Для создания пористых материалов были сформированы 2 типа образцов (Рисунок 9). Для синтеза первого типа использовано соотношение алкоксисилановых и алкилалкоксисилановых предшественников МТЭС/ТЭОС 50/50 об. %, в качестве шаблонов применены клетки бактерий *P. yeii*, также сформирован материал сравнения без клеток.



Рисунок 9. Блок-схема состава материалов разных типов

Для синтеза второго типа соотношение предшественников составляло МТЭС/ТЭОС 85/15 об. %, сформированы материалы с клетками дрожжей *O. polymorpha* ВКМ Y-2559, смесью дрожжей и бактерий и образец сравнения без применения клеток. Данные соотношения были выбраны, поскольку ранее была изучена и подтверждена успешная иммобилизация биоматериалов при использовании смесей силановых предшественников. Сочетание различных шаблонов и соотношений МТЭС/ТЭОС позволяет варьировать морфологию и оценить влияние химического состава носителя и природы биологического шаблона на сорбционные и десорбционные свойства пористого материала.

На микрофотографиях СЭМ материалов, полученных при использовании клеток микроорганизмов в качестве шаблонов, можно заметить объекты сферической формы, близкие по размерам к клеткам. Для дрожжей их диаметр составил 3 мкм, а для бактерий – 1 мкм (Рисунок 10). Материалы, сформированные без использования клеток микроорганизмов, характеризуются упрощенной морфологией и отсутствием крупных сфер на поверхности образцов.

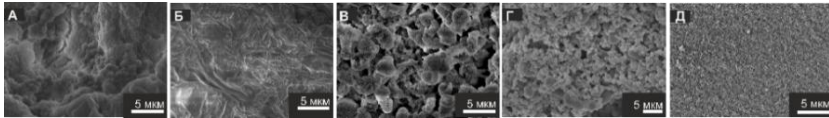


Рисунок 10. СЭМ-микрофотографии образцов до отжига. I тип – МТЭС/ТЭОС 50/50 об.%; А - с и Б - без клеток бактерий; II тип – МТЭС/ТЭОС 85/15 об.%; В - с клетками дрожжей, Г - смеси дрожжей и бактерий, Д – без клеток.

Полученные образцы были подвергнуты отжигу в диапазоне температур от 200 до 1200 °С с шагом в 200 °С (Рисунок 11).

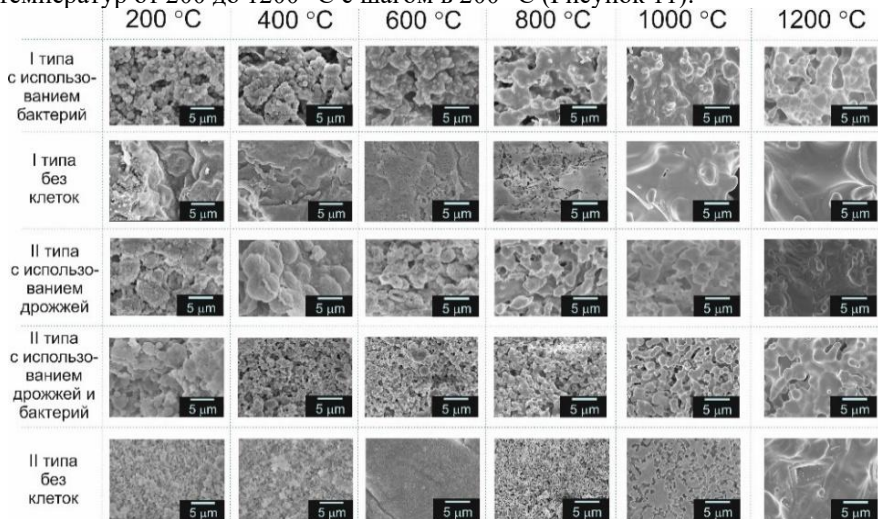


Рисунок 11. СЭМ-микрофотографии для материалов I и II типов, отожженных в диапазоне температур от 200 до 1200 °С.

Материалы, не подвергавшиеся термическому воздействию, и после отжига при 200 °С по морфологии не отличаются. Повышение температуры до 600 °С приводит к сглаживанию поверхности материалов, полученных без использования микроорганизмов. Для образцов, сформированных с использованием клеток, обработанных при 800 °С, отмечается изменение морфологии поверхности за счет спекания, по-видимому, объясняемое достижением температуры Таммана (для SiO₂ – 759 °С). Выше этой температуры все материалы становятся более однородными и монолитными. Изменение морфологии образцов может сказаться на их сорбционных и десорбционных свойствах (Рисунок 11).

В работе в качестве антисептического вещества применен октенидин дигидрохлорид, который является одним из наиболее эффективных

коммерчески доступных антисептических средств. Это четвертичное аммониевое соединение благодаря двум положительно заряженным атомам азота и алкильным цепочкам проявляет активность против грамположительных и грамотрицательных бактерий, дрожжей рода *Candida* и некоторых вирусов (Схема 5).

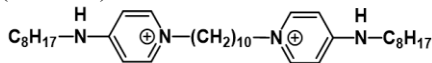


Схема 5. Структурная формула октенидина

Концентрацию октенидина в растворе определяли методом УФ-спектроскопии. Повышение температуры отжига в диапазоне от 200 до 800 °С приводит к постепенному удалению органических компонентов клеток и метильных групп из кремнийорганической матрицы. Образующиеся поры обеспечивают увеличение сорбционной емкости материалов по отношению к октенидину. Количество сорбированного октенидина было определено после выдерживания кремнийсодержащих образцов в растворе антисептика в течение 18 часов. Для всех материалов характерен рост сорбционных свойств при увеличении температуры отжига до 800 °С, после чего количество сорбированного октенидина уменьшается. Максимальное количество десорбированного октенидина характерно для материалов с температурой отжига 800 °С, что может свидетельствовать о изменениях в их структурах. Дальнейшее повышение температуры обработки приводит к уменьшению значений кумулятивной десорбции, что связано со спеканием материала (Рисунок 12). Наибольшее количество десорбированного октенидина характерно для материала I типа, сформированного с использованием клеток бактерий, и температурой отжига 800 °С.

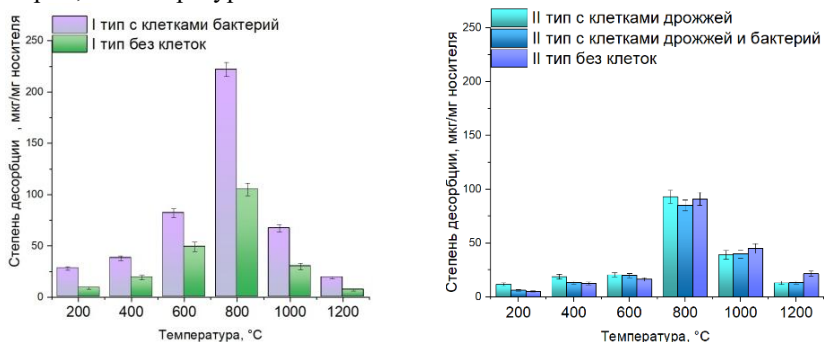


Рисунок 12. Зависимость количества десорбированного октенидина от типа материала и температуры отжига

Методом ИК-спектроскопии показано (Рисунок 13), что для материалов I типа, сформированных с использованием бактерий, после отжига при 800 °С наблюдаются характерные для α -кристобалита полосы поглощения при 475 и 620 см^{-1} , соответствующие деформационным колебаниям Si-O-Si связей; аналогичных полос поглощения для образца, полученного после

отжига при 600 °С, не наблюдалось. Результаты ИК-спектроскопии подтверждены методом рентгенофазового анализа (Рисунок 14).

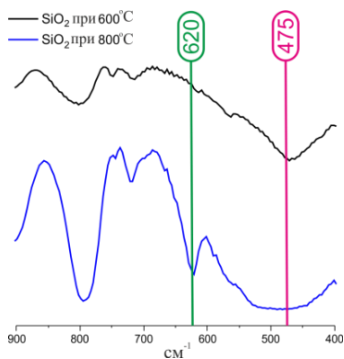


Рисунок 13. ИК-спектры материалов I типа, полученных с использованием бактериальных клеток и отожжённых при 600 и 800 °С.

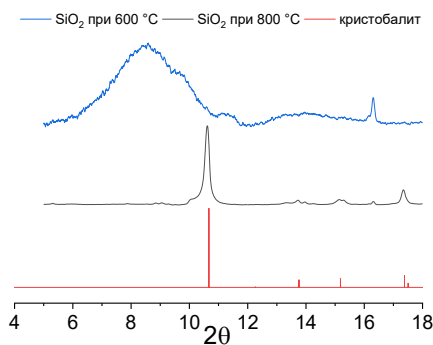


Рисунок 14. Спектры рентгеновской дифракции кремнийсодержащих материалов I типа на основе бактериальных шаблонов после отжига при 600 и 800 °С и α-кварца

Широкое гало в области 6-10° углов 2θ соответствует аморфному оксиду кремния, полученному при температуре отжига 600 °С. Примечательно, что при отжиге материала при 800 °С полностью исчезает дифракционная область, соответствующая аморфному оксиду кремния, вместо этого наблюдаются рефлексы в углах 2θ -10.7, 13.8, 15.2, 17.3, соответствующие α-кварцу.

Для материалов I типа, сформированных с использованием клеток бактерий, для определения причин более высокой сорбции и десорбции октенидина в материал с температурой отжига 800 °С были исследованы электрохимические характеристики поверхности. Значения ζ -потенциала демонстрируют зависимость заряда поверхности материала от температуры обработки, начиная со значений -42, -45 мВ и -48 мВ для образцов с температурой обработки 200, 400 и 600 °С, соответственно. Максимальное по модулю значение ζ -потенциала характерно для образца с температурой отжига 800 °С, которое составляет -61 мВ, после чего происходит незначительное снижение до -59 мВ при повышении температуры до 1000 °С. Увеличение модуля потенциала указывает на формирование поверхности, обогащённой силанольными группами, и минимальное содержание органической составляющей, что способствует лучшей сорбции октенидина.

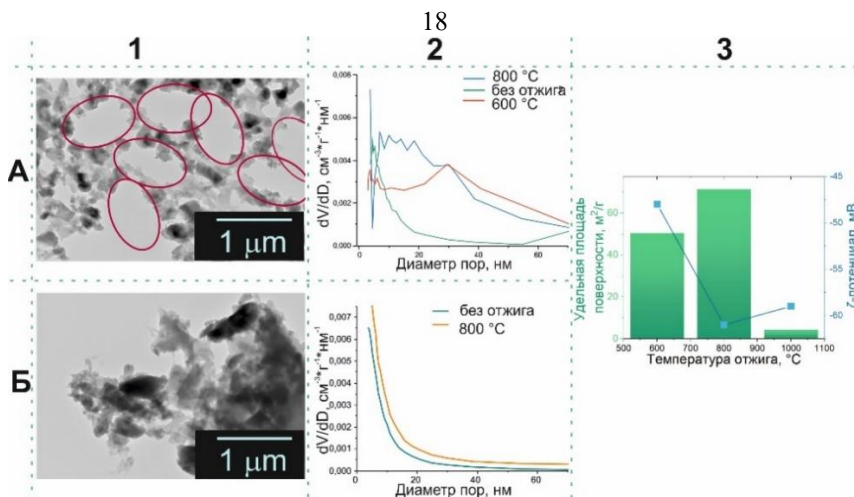


Рисунок 15. А - материал I типа с температурой отжига 800 °C, сформированный с использованием бактерий, Б – материал I типа, сформированный без клеток. 1 - ПЭМ; 2 – распределение пор в образцах; 3 – Зависимость значений удельной площади поверхности и ζ-потенциала от температуры отжига для материалов I типа, сформированных с использованием бактерий.

Методом ПЭМ (Рисунок 15.1) тонких срезов материала, полученного с использованием бактериальных клеток, показано наличие полостей размером примерно $1 \times 0,5$ мкм. Помимо крупных пустот, видны более мелкие поры размером от 50 до 300 нм. Методом Барретта-Джойнера-Халенды определено распределение пор по диаметру (Рисунок 15.2). Для образца, сформированного с использованием бактерий, при температуре отжига 800 °C характер распределения пор по размеру изменяется, становится больше пор с диаметром от 10 до 60 нм. У материала-сравнения при отжиге незначительно изменяется распределение пор, наибольшее их число имеет диаметр до 20 нм. Меньший диаметр пор материала может влиять на сорбцию и десорбцию активного вещества, поскольку размер молекулы октенидина составляет 9 Å, что может приводить к диффузионным затруднениям.

Таким образом, для материала I типа наблюдаемый экстремум ζ-потенциала при температуре отжига 800 °C связан с изменением фазового состава и с увеличением содержания силанольных групп, что приводит к росту отрицательного заряда (Рисунок 15.3). Это усиливает электростатическое взаимодействие с катионной молекулой октенидина и способствует повышению сорбционной способности материала. В то же время данный эффект реализуется совместно с изменением пористой структуры и увеличением удельной поверхности, что дополнительно улучшает процессы сорбции и десорбции. В таблице 2 приведены данные о площади поверхности,

пористости, загрузочной и десорбционной способности синтезированных и ранее описанных в литературе материалов.

Таблица 2. Свойства кремнийсодержащих загрузочных материалов

Образец		Площадь поверхности м ² /г	Степень десорбции ОКТ,	
			мкг/мг носителя	%
С использованием бактерий	Без отжига	35	—	—
	800°C	122	222	89
Без использования клеток	Без отжига	49	—	—
	800°C	68	105	32
Кремниевый материал на основе мицелл ОКТ (Stewart C.A.et al., 2018)		856	110	34
Эфир поли-D,L-лактида (Klaue A. et al., 2020)		-	34	38
Поли-D,L-лактид-ко-гликолид (Klaue A. et al., 2020)		-	71	95

По кинетическим кривым определен характер десорбции антисептического препарата (Рисунок 16). Десорбция октенидина из материала, полученного с использованием клеток микроорганизмов, происходит в две стадии.

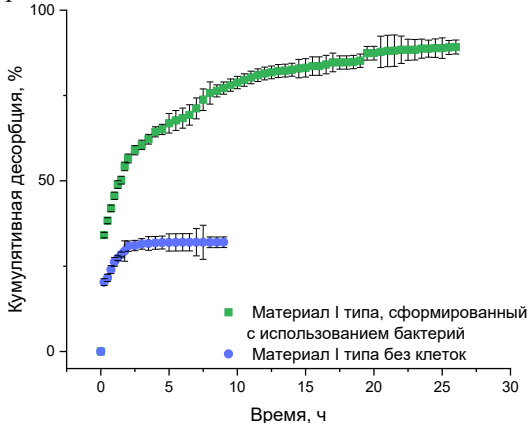


Рисунок 16. Кинетические кривые десорбции октенидина из материалов I типа

Первая стадия характеризуется «эффектом выброса» — быстрым процессом массопереноса октенидина с поверхностных слоев кремнийсодержащего материала в раствор, которая плавно переходит во вторую — пролонгированной десорбции. Из материала, сформированного с использованием клеток бактерий, на первом этапе выброса за 1,25 ч десорбируется 49% от загруженного октенидина, из материала без клеток за 1 ч — 27% (Таблица 3). Во время второй стадии происходит медленная

десорбция октенидина с внутренней поверхности материалов через транспортные поры.

Таблица 3. Кинетические параметры десорбции октенидина из кремнийсодержащих материалов при комнатной температуре

Материал Параметры	С использованием бактерий	Без использования клеток
Коэффициент диффузии, D_{Intra} м ² /с	$1 \cdot 10^{-12}$	$3 \cdot 10^{-13}$
Время выброса, ч	1,25	1
Эффект выброса, %	49	27
Кинетическая константа скорости десорбции, k , ч ⁻¹	0,12	0,40
Диффузионная экспонента, n	0,439	0,380
Коэффициент корреляции, R^2	0,9855	0,9765
Механизм десорбции	Диффузия Фика	Диффузия Фика

Величина диффузионной экспоненты для обоих материалов говорит о диффузии Фика с учетом ошибки определения, равной 5%. Кинетика десорбции октенидина из материалов описывается моделью первого порядка ($R^2 = 0,9679$ и $0,9965$ для материалов, сформированных с использованием клеток и без их использования, соответственно), что свидетельствует о том, что процесс десорбции антисептика зависит от его концентрации в носителе. Низкое соответствие кинетических кривых модели Хиксона-Кроувелла для материалов I типа демонстрирует десорбцию октенидина вследствие диффузии без сопутствующей деградации носителей.

Антибактериальная активность материалов I типа была проверена на культуре фитопатогенных микроорганизмов *Rhodococcus fascians* Ac-1462. Изучено изменение диаметров зон лизиса в зависимости от времени выдерживания материала с сорбированным октенидином на чашках Петри. Материал, полученный с использованием клеток бактерий, поддерживает зону лизиса 12 мм в течение 20 дней, в то время как материал сравнения сохраняет в течение 10 дней зону лизиса в 8 мм. Это происходит из-за того, что материал, полученный без использования микроорганизмов, высвобождает меньшее количество октенидина для подавления роста микроорганизмов.

После теста на фитопатогенных бактериях оценена эффективность материала для медицинского применения. Для этого антисептические свойства материала, сформированного с использованием бактерий, была проверены относительно ингибирования роста некоторых планктонных микроорганизмов клинически значимых патогенов (Рисунок 17). На графиках показано время гибели клеток после действия сформированного материала.

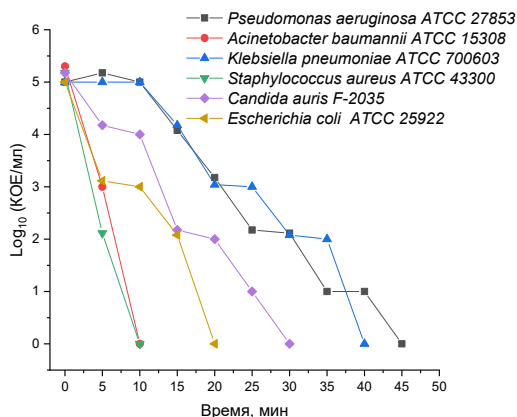


Рисунок 17. Время гибели планктонных микроорганизмов при контакте с разработанным антисептическим материалом

Влияние десорбированного октенидина на кинетику инактивации патогенных микроорганизмов было оценено через расчёт констант скорости инактивации (k , мин^{-1}) и D-времён, характеризующих уменьшение жизнеспособной популяции на 90%. Для *A. baumannii* и *S. aureus* наблюдались наибольшие значения k (6,10 и 5,96 мин^{-1} соответственно) и минимальные D-времена ($\sim 0,38$ мин), что свидетельствует о высокой чувствительности этих штаммов к действию октенидина, десорбируемого из полученного в работе материала. Напротив, у *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* и *C. auris* были получены существенно более низкие k ($\sim 1,38$ – $1,96$ мин^{-1}) и более высокие D-времена (> 1 мин), что отражает большую устойчивость данных видов и согласуется с их структурными особенностями клеточных оболочек. Подобная динамика инактивации коррелирует с литературными данными о противомикробной активности октенидина. Сорбция октенидина в полученный материал, вероятно, способствует поддержанию высокой локальной концентрации активного вещества и более эффективному контакту с объектами инактивации, что подтверждается низкими D-временами для наиболее чувствительных штаммов. Таким образом, полученные кинетические параметры свидетельствуют о высокой эффективности материала в отношении ряда клинически значимых патогенов, при этом особенности мембранной структуры и механизмы устойчивости бактерий и грибов определяют вариабельность ответных кинетических характеристик. Показано, что сформированный материал обладает пролонгированным антимикробным эффектом и перспективой использования в биомедицинской сфере.

Основные результаты и выводы

1. Формирование кремнийорганического материала, содержащего 85 об.% метилтриэтоксисилана для иммобилизации смеси дрожжевых клеток *Ogataea polymorpha* ВКМ Y-2559, *Blastobotrys adeninivorans* ВКМ Y-2677 и *Debaryomyces hansenii* ВКМ Y-2482, позволяет инкапсулировать

микроорганизмы в материал с наименьшей степенью конденсации органосилоксановых мономеров по сравнению с другими материалами, исследованными в работе. Такая структура обеспечивает наименее выраженные внутривыводные диффузионные ограничения и сохранение высокой каталитической активности клеток в течение не менее 25 суток. Полученный материал пригоден для получения биорецепторного элемента БПК-биосенсоров.

2. Установлено, что использование бактериальных клеток *Paracoccus yeai* ВКМ В-3302 в качестве шаблонов при синтезе пористого кремнийсодержащего материала, содержащего 50 об.% метилтриэтоксисилана, и его последующий отжиг при 800 °С обеспечивает формирование носителя, пригодного для адсорбции и пролонгированной десорбции октенидина дигидрохлорида. При данной температуре происходит фазовый переход аморфного диоксида кремния в α -кristобалит, что сопровождается достижением максимальной электроотрицательности среди исследованных материалов и максимальным показателем сорбции. Десорбция октенидина из полученного материала в два раза превышает соответствующий показатель для материалов, синтезированных без применения бактерий-шаблонов и полученных с использованием мицелл октенидина.

3. Кинетика десорбции октенидина из силикатного материала, полученного с использованием бактерий как шаблонов, характеризуется двухстадийным механизмом: на первой стадии происходит непродолжительная (1-1,25 ч) взрывная десорбция, в то время как на второй стадии десорбция подчиняется законам диффузии Фика. Показано, что применение клеток бактерий предпочтительнее для синтеза материала для адсорбции антисептика по сравнению с аналогичными рассмотренными функциональными материалами.

4. Синтезированный кремнийсодержащий материал с сорбированным октенидином дигидрохлоридом обладает выраженным антисептическим действием против фитопатогенных бактерий *Rhodococcus fascians* Ac-1462 и ключевых патогенов человека, включая *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Acinetobacter baumannii* ATCC 15308, *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Candida auris* F-2035. Полученные кинетические параметры свидетельствуют о высокой эффективности материала в отношении ряда клинически значимых патогенов. Полученные результаты подтверждают, что синтезированный материал с пролонгированным действием позволяет эффективно подавлять широкий спектр патогенов и может быть использован в биомедицинской сфере.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Kamanina O. A., Lantsova E. A., Rybochkin P. V., Arlyapov V. A., Saverina E. A., Kulikovskaya N. S., Perepukhov A. M., Vereshchagin A. N., Ananikov, V.

- P. “3-in-1” hybrid biocatalysts: association of yeast cells immobilized in a sol-gel matrix for determining sewage pollution // *ACS Applied Materials & Interfaces*. – 2023. – Vol. 15(40). – P. 47779-47789. <https://doi.org/10.1021/acsami.3c09897> (Q1; IF= 8.3)
2. Lantsova E. A., Pertseva V. A., Soromotin V. N., Saverina E. A., Kamanina O. A. Functionalized Organosilicon Material as a Potential Support for the Loading of Active Compounds // *Silicon*. – 2025. – Vol. 17. – P. 1611–1623. <https://doi.org/10.1007/s12633-025-03293-9> (Q2, IF= 3.3)
3. Kamanina O. A., Lantsova E. A., Saverina E. A., Soromotin V. N., Pertseva V. A., Ryabov A. A., Galushko A. S., Vereshchagin A. N., Ananikov V. P. Dual-Function Sol-Gel Antibacterial Materials with Biphasic Octenidine Release for Decontamination and Long-Term Protection // *ASC Omega*. – 2026. – Vol. 11(6) – P. 9984–9995. <https://doi.org/10.1021/acsomega.5c10721> (Q1; IF= 4.3)
4. Ланцова Е.А., Колыхалов Д.А. Формирование пористых кремнийорганических материалов с использованием биотемплатов // Материалы XII Международной конференции молодых ученых: биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов, молекулярных биологов и специалистов фундаментальной медицины в рамках площадки открытых коммуникаций OpenBio. – 2025. – С. 193-194.
5. Ланцова Е.А. Формирование антисептического пористого материала методом золь-гель технологии с использованием биотемплатов // Материалы X Международной молодежной научно-практической конференции «Горизонты биофармацевтики». – 2025. – С. 186-189.
6. Ланцова Е.А., Каманина О.А. Антибактериальный кремнийорганический материал на основе октенидина дигидрохлорида // Сборник тезисов конференции-школы «Новые горизонты катализа и органической химии». – 2025. – С. 49.
7. Ланцова Е.А., Саверина Е.А. Изучение морфологии гибридных антисептических золь-гель материалов, сформированных методом золь-гель синтеза // Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2024», секция «Химия». – 2024. – С. 986.
8. Khodyreva A. S., Kamanina O. A., Lantsova E. A. Formation of the silicon-containing porous carrier materials using bacterial cells // *INEOS OPEN*. – 2024. – Vol. 7, № 1-3. – P. 40-41.
9. Ланцова Е.А. Антибиопленочные покрытия на основе кремнийорганических золь-гель материалов // Материалы VII Международной конференции стран СНГ «Золь-гель 2023». – 2023. – С. 50.

Благодарности

Автор выражает искреннюю признательность научному руководителю, к.х.н. доценту О.А. Каманиной за помощь, мудрые советы и поддержку при подготовке диссертации. Автор выражает глубокое уважение академику В.П. Ананикову за ценные консультации и помощь в публикационной деятельности. Автор искренне благодарит д.х.н. К.С. Егорову за важные указания при подготовке диссертации, д.х.н. А.С. Кашина и к.т.н. Н.М. Иванову за помощь с получением изображений кремнийсодержащих материалов и их срезов методами электронной микроскопии, к.б.н. Е.В. Детушеву за помощь в исследовании антисептических свойств против патогенных микроорганизмов. Автор признателен к.х.н. П.В. Рыбочкину, к.х.н. В.Н. Соромотину, В.А. Перцевой и всем соавторам за совместные исследования, помощь в проведении экспериментов и при подготовке публикаций. Автор выражает глубокую благодарность будущему мужу Д.А. Колыхалову, а также своей семье – О.В. Ивановой и А.А. Иванову за моральную поддержку, вдохновение и терпение.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 25-23-00410 "Создание кремнийсодержащих материалов для загрузки антибактериальных веществ – четвертичных аммониевых соединений" в лаборатории Биологически активных соединений и биокмполитов, исследования в которой проводятся в рамках грантов Министерства науки и высшего образования РФ по государственному заданию по темам: «Синтез таргетных биологически активных ионных соединений и новых биокмполитных материалов» (FEWG-2021-0011) и «Химическая, биологическая и наноструктурная модификация функциональных материалов, как стратегия борьбы, исследования свойств и подходов к практическому применению микробных биопленок» (FEWG-2024-0004).