

УДК 579.6

ТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ДВУХКОМПОНЕНТНЫХ НАНОЧАСТИЦ, ОЦЕНЕННЫЙ МЕТОДОМ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА

*Павлинова А.С., студент-магистр,
тел. 8(987) 847-85-22, nastenka_176@mail.ru*
Научные руководители – доц. Дроздова Е.А., доц. Алешина Е.С.
*ФГБОУ ВПО Оренбургский государственный университет,
Оренбург, Россия*

Ключевые слова: нанотоксикология, наночастицы, люминесцирующие микроорганизмы, биотоксичность.

В настоящее время широкое распространение получили наноматериалы, которые являются двухкомпонентными и сочетают в себе свойства отдельных, входящих в их состав наночастиц металлов, которые в ионной форме являются эссенциальными элементами. При этом сохраняется наноразмер данных частиц. Работа посвящена проведению сравнительного анализа совместного действия двухкомпонентных наночастиц на живые организмы.

Введение. В настоящее время анализ современной научно-технической литературы, посвященной развитию различных нанотехнологий, свидетельствует о возрастающем понимании потенциальных опасностей их широкого применения для здоровья человека и окружающей среды [1]. Имеющиеся данные по воздействию наноматериалов позволяют утверждать, что они способны воздействовать на метаболизм живой клетки, нарушая его естественный ход [2], способны вызывать повреждение ДНК [3], а также воздействовать на функции биомолекул [4], влиять на выживаемость и воспроизводство [5]. Результаты исследований, проведенные на биологических объектах, отражают реальные риски применения наноматериалов для человека, по этим данным можно прогнозировать с той или иной степенью достоверности воздействие на весь организм.

Цель работы – изучить и провести сравнительную оценку биологических эффектов двухкомпонентных наночастиц меди и цинка, представляющие собой смесь и сплав данных наночастиц.

Материалы и методика исследований. Работа была выполнена с использованием двух лабораторных препаратов наночастиц (NFs) металлов в виде нанопорошков. Список включал наночастицы смеси меди и цинка (NFsCu + NFsZn), и их сплава (NFsCu – NFsZn, $d=(95,7 \pm 3,1)$ нм), в обоих случаях в соотношении 60 % меди ($d=(103,0 \pm 2,0)$ нм) и 40 % цинка ($d=(98,0 \pm 2,1)$ нм). Оценка биологических эффектов наночастиц проводили с использованием стандартной методики биолюминесцентного анализа, подобранной для исследования токсичности наноматери-

алов [6]. Объектом исследования являлся люминесцирующий штамм *Escherichia coli* K12 TG1 с клонированными luxCDABE генами *Vibrio fischeri*. Используемый бактериальный штамм выпускается ЗАО НВО «Иммунотех» (Россия) в лиофилизированном состоянии под коммерческим названием «Эколюм». Методика биотестирования включала приготовление суспензий анализируемых соединений, их смешивание и совместную инкубацию с сенсорными микроорганизмами.

Биолюминесцентный анализ с использованием *E. coli* K12 TG1 проводился в течение 180 минут и включал количественное измерение биолюминесценции в контрольных и опытных пробах с помощью микропланшетного анализатора Infinite PROF200 («Tecan Group, Ltd», Швейцария). Основные данные, полученные в исследованиях, были выполнены в трех повторностях и обработаны методами вариационной статистики с использованием статистического пакета STATISTICA 6.1.478 («Stat Soft Inc.», США).

Результаты исследований. При сравнении биотоксичности исследуемых двухкомпонентных наноматериалов выявлено, что наночастицы латуни (NFsCu – NFsZn) проявили меньший токсический эффект по сравнению с образцом смеси меди и цинка (NFsCu + NFsZn). Контакт *E. coli* K12 TG1 с минимальными исследуемыми концентрациями наночастиц латуни (от 4×10^{-5} до 3×10^{-3} М) вызывал сначала снижение интенсивности свечения биосенсора в течение всего времени контакта биосенсора с наноматериалом, а более высокие концентрации (от 7×10^{-3} до 0,5 М) вызвали полное подавление свечения.

Использование смеси наночастиц меди и цинка (NFsCu + NFsZn) вызывало больший токсический эффект по сравнению с образцом наночастиц латуни (NFsCu – NFsZn). Биологическая активность наночастиц смеси меди и цинка (NFsCu + NFsZn) выражалась в подавлении свечения исследуемого тест-объекта, которое наблюдалось на 180 минуте контакта уже в самых минимальных использованных концентрациях (от 4×10^{-5} до 9×10^{-5} М). Полное тушение биолюминесценции происходило на 180 минуте контакта при воздействии более высоких концентраций (от 1×10^{-3} до 0,5 М).

Заключение. При исследовании токсического действия исследуемых наночастиц с использованием *Escherichia coli* K12 TG1 в качестве тест-объекта наблюдалась высокая биологическая активность при воздействии двухкомпонентных наночастиц (NFsCu – NFsZn) и (NFsCu + NFsZn) с используемым биосенсором. На основании полученных данных можно сделать вывод, что наиболее выраженным биологическим эффектом обладают наночастицы (NFsCu + NFsZn), следовательно, они являются наиболее токсичными образцами, чем наночастицы латуни (NFsCu – NFsZn).

В целом, отклик микроорганизмов на токсиканты коррелирует с действием на высших животных и культуры тканей человека [7, 8]. Так как наночастицы металлов в настоящее время используются во многих областях науки и техники, в промыш-

ленности, сельском хозяйстве, медицине, они постоянно поступают в экосистемы и воздействуют на все живые организмы, в том числе и на человека. Последние исследования не подтверждают полной безопасности наночастиц для здоровья человека. Следовательно, исследование их биологических эффектов на живые организмы является необходимым и позволяет оценить потенциальные риски воздействия наночастиц на живые организмы и контролировать их использование. Необходимы широкие исследования безопасности, токсичности и биосовместимости наноматериалов и нанопрепаратов, особенно при их биомедицинском применении.

Библиографический список:

1. Handy R.D. The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: current status, knowledge gaps, challenges, and future needs / R.D. Handy, R. Owen, E. Valsami-Jones // *Ecotoxicology*. – 2008. – V. 17. – № 5. – P. 315–325.
2. Lin W. Cytotoxicity and cell membrane depolarization induced by aluminum oxide nanoparticles in human lung epithelial cells A549 / W. Lin [et al.] // *Toxicological & Environmental Chemistry*. – 2008. – V. 90. – No 5. – P. 983–996.
3. Короткова А. М. ДНК-повреждающие эффекты наночастиц Ni и NiO в растениях вида *Triticum vulgare* / Короткова А. М., Лебедев С. В., Русакова Е. А. // Вестник Оренбургского государственного университета, 2015. – № 10. – С. 24–26.
4. Salonen E. Time Translocation of Fullerene Reveals Cell Contraction / E. Salonen [et al.] // *Small*, 2008. – V.4. – No.11.
5. Томилина И.И. Влияние наночастиц металлов на выживаемость и плодовитость *Ceriodaphnia affinis* / И.И. Томилина, В.А. Гремячих, В.Т. Комов // Материалы IV Всероссийской конференции по экотоксикологии (24–29 сентября 2011 г.). Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. Борок.: ИБВВ РАН. – 2011. – Ч.4. – С. 189–192.
6. Дерябин Д.Г. Применение теста ингибирования бактериальной биолюминесценции для оценки биотоксичности углеродных наноматериалов / Д.Г. Дерябин, Е.С. Алешина, Л.В. Ефремова // *Микробиология*. – 2012. – Т.81. – №4. – С. 532–538.
7. Bulich A.A. Use of the luminescent bacterial system for the rapid assessment of agnatic toxicity / A.A. Bulich, D.L. Isenberg // *Adv. Instrumentat.* – 1980. – V. 35. – P. 35–40.
8. Johnson B.T. Microtox acute toxicity test // *Small scale Freshwater Toxicity Investigations* / Eds. Blaise C. and Ferard J. F. Springer. – 2005. – V. 1. – P. 69–105.

TOXIC EFFECT OF TWO-COMPONENT NANOPARTICLES, ASSESSED BY BIOLUMINESCENT ANALYSIS

Pavlinova A.S.

Key words: *nanotoxicology, nanoparticles, luminescent microorganisms, biotoxicity.*

At present, widely used nanomaterials, which are in two different areas are presented in their composition of metal nanoparticles that are ionic form are essential elements. At the same time, nanosized particles are preserved. The work is devoted to the study of the comparative analysis of the joint actions of two-component nanoparticles on living organisms.