УДК 504.064.3:574:546.56/.57

О.О. КРАВЧЕНКО[1], В.І. МАКСІН[1], В.Ф. КОВАЛЕНКО[2]

[1]Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 17, м. Київ, 03041
[2]Інститут колоїдної хімії та хімії води ім. А.В.Думанського НАН України
бульвар Академіка Вернадського, 42, Київ, 03680

ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ НАНОАКВАЦИТРАТІВ СРІБЛА ТА МІДІ ЗА ДОПОМОГОЮ ТЕСТ-ОРГАНІЗМІВ РІЗНИХ ТРОФІЧНИХ РІВНІВ

За допомогою методів біотестування досліджено ступінь токсичності наноаквацитратів срібла і суміші наноаквацитратів міді та срібла з концентрацією 0,01-0,3 мг/дм^3 при внесенні у води різного походженні. Показано, що досліджувані концентрації наноаквацитратів срібла і суміші срібла та міді виявляють гостру токсичність для біоти при 0,02 мг/дм^3 для штучної води і 0,05 мг/дм^3 для природної води. Виняток становлять ракоподібні дафнії (*Daphnia magna*), для яких всі досліджувані концентрації препаратів виявилися летальними. Таку високу чутливість до дії цих речовин можна пояснити порушенням наночастинками фільтруючих здібностей їх організму.

Ключові слова: штучна і природна вода, наноаквацитрати, біотестування, тест-організми

При застосуванні нових речовин у навколишньому середовищі набуває актуальності питання щодо їх токсичності. Особливу тривогу викликають речовини, отримані методами нанотехнологій. Нез'ясованим залишається механізм взаємодії наночастинок із екосистемою в цілому і живим організмом зокрема, крім цього, токсичність даних речовин не можна обмежувати методами екстраполяції до наномасштабів [5, 6, 12].

Наноаквацитрати металів, які були розроблені українськими вченими [9], широко використовуються в сільському господарстві та тваринництві. Попередньо виявлено, що препарати володіють антибактеріальною дією щодо збудників захворювань риб [8]. У той же час залишається нез'ясованим, як ці речовини будуть впливати на біологічні системи і водну екосистему в цілому. Одним із можливих рішень даного питання є використання методів біотестування, які дають змогу простежити вплив речовин на об'єкти різних трофічних рівнів, і разом з цим не потребують дорогого обладнання, обмежені в часі, легкі в дослідженні, універсальні [10].

Мета роботи - проаналізувати вплив різних концентрацій наноаквацитратів срібла і суміші наноаквацитратів міді та срібла на представників різних трофічних рівнів водної екосистеми з використанням методів біотестування.

Матеріал і методи досліджень

Експерименти проводилися на базі лабораторії біомаркерів та біотестування вод ІКХХВ ім. А.В. Думанського та навчально-науково-виробничої лабораторії рибництва НУБіП України [1-3].

В дослідах використовували організми різних трофічних рівнів, які культивувалися в штучно підготовленій воді, близькій до ідеальної питної. Гідробіонти адаптувалися до цього водного середовища і при будь-якій зміні якості вод відповідно реагували на зміни умов.

Як тест-об'єкти використали:

Allium cepa L.- багаторічної трав'янистої рослини підродини Цибулевих (*Alliaceae*). Цибулини витримували в дослідному і контрольному розчинах. Критерієм токсичності слугували зміни масово-розмірних показників проростків корінців.

Triticum aestivum L. однорічної трав'янистої рослини родини злакових (*Poaceae*). Вплив наноаквацитратів визначали за швидкістю і часткою схожості насіння, а також порівнювали показники маси і довжини проростків.

Hydra attenuata - представника прісноводних кишковопорожнинних; при біотестуванні реєстрували морфологічні зміни і виживаність особин при 96-годинній експозиції в досліджуваних розчинах.

D.magna - планктонного ракоподібного з підряду гіллястовусих (Cladocera). Показником токсичності культури дафній був летальний ефект протягом 1-4 діб.

Danio rerio – представника прісноводних риб родини Коропові *(Cyprinidae).* Оцінювали дію наноаквацитратів за кількістю померлих особин протягом 96 годин.

Щоб проаналізувати вплив препаратів на модельні і природні водні екосистеми і оцінити можливість використання їх в прикладних цілях, було прийнято рішення проводити дослідження у двох напрямках.

Перше - контролем слугувала штучна вода середньої твердості (до дистильованої води додавали солі натрію, калію, кальцію та магнію), друге - досліди проводилися на ставковій воді з водойм навчально-науково-виробничої лабораторії рибництва в смт Немішаєве Київської області.

Природня вода використовується при штучному нересті і культивуванні ікри та ембріонів риб. Ставкова вода містить у своєму складі велику кількість органічних речовин, в тому числі гумінових кислот, які можуть зменшувати токсичність важких металів по відношенню до водних організмів.

Піддослідні групи тест-організмів утримувалися в розчинах, виготовлених шляхом додавання до ставкової та еталонної води наноаквацитратів срібла і суміші срібла і міді з концентрацією 0,01-0,3 мг/дм^3.

Умови утримання під час процедури біотестування контрольних і піддослідних груп тест-організмів не відрізнялися за фізико-хімічними параметрами за винятком відсутності або наявності наноаквацитратів. Досліди проводили в трикратній повторюваності.

Результати досліджень та їх обговорення

Як видно з таблиці 1, в штучно підготовленій воді наноаквацитрати срібла не виявляють токсичного ефекту при концентрації 0,025 мг/дм^3, а в природній ставковій воді - при 0,05 мг/дм^3. Схожі результати при проведенні біотестуванні отримані для риби даніо при внесенні у водне середовище різних концентрацій суміші наноаквацитратів срібла і міді (див. табл. 2).

Встановлено, що для риб, які культивуються в штучно підготовленій воді, гостра токсична дія суміші наноаквацитратів срібла і міді спостерігається для даніо реріо на рівні 0,05 мг/дм^3, а для ставкової природної води - 0,08 мг/дм^3.

При концентрації 0,01-0,025 мг/дм^3, наноаквацитрати не мали токсичної дії на риб в штучній воді і при вмісті 0,03-0,05 мг/дм^3 - в природній ставковій воді.

При концентраціях суміші наноаквацитратів срібла і міді 0,02 мг/дм^3 для штучно підготовленої води і 0,05 мг/дм^3 для ставкової виживаність прісноводної гідри (*H.attenuata*) склала 100%.

Для ракоподібних дафній (*D.magna*) всі досліджувані концентрації наноаквацитратів срібла і суміші срібла та міді виявилися летальними, що вказує на їх високу чутливість до дії цих речовин. Такий ефект можна пояснити фізіологічними особливостями харчування дафнії. При добуванні кормових об'єктів (одноклітинні організми і частинки детриту) з водного середовища за допомогою фільтрації, у цих ракоподібних, відбувається механічне накопичення наночастинок препаратів міді та срібла на фільтруючому органі з подальшою інтоксикацією організму.

Дослідження впливу наноаквацитратів срібла і суміші срібла та міді на показники росту корінців озимої пшениці «Миронівська - 808» (*T. aestivum* L.) показало, що достовірні зміни розмірно-вагових показників спостерігалися при концентрації 0,05 мг/дм^3 для ставкової води. В цих умовах відбувалося пригнічення проростання тестової рослини. У той же час, для штучної води достовірні зміни розмірно-масових показників не спостерігалися.

Таблиця 1

Виживаність риби даніо реріо (*Danio rerio*) при внесенні різної концентрації наноаквацитратів срібла

Варіант	Загиблих риб %			
	4 од.	8 од	2 од	6 од
Штучно підготовлена вода				
Контроль				
з додаванням наноаквацитратів срібла 0,01 мг/дм^3				
з додаванням наноаквацитратів срібла 0,025 мг/дм^3				
з додаванням наноаквацитратів срібла 0,05 мг/дм^3	6	6	6	6
з додаванням наноаквацитратів срібла 0,1 мг/дм^3	00			
з додаванням наноаквацитратів срібла 0,3 мг/дм^3	00			
Ставкова вода				
Контроль				
з додаванням наноаквацитратів срібла 0,03 мг/дм^3				
з додаванням наноаквацитратів срібла 0,05 мг/дм^3				
з додаванням наноаквацитратів срібла 0,08 мг/дм^3	0	0	0	00
з додаванням наноаквацитратів срібла 0,1 мг/дм^3	00			

Таблиця 2

Виживаність риби даніо реріо (*Danio rerio*) при внесенні різної концентрації наноаквацітратів срібла

Варіант	Загиблих риб, %			
	4 од	8 од	2 од	6 од
Штучно підготовлена вода				
Контроль				
з додаванням наноаквацитратів срібла і міді 0,01 мг/дм^3				
з додаванням наноаквацитратів срібла і міді 0,025 мг/дм^3				
з додаванням наноаквацитратів срібла і міді 0,05мг/дм^3	0	0	0	0
з додаванням наноаквацитратів срібла і міді 0,1 мг/дм^3	00			
з додаванням наноаквацитратів срібла і міді 0,3 мг/дм^3	00			
Ставкова вода				
Контроль				
з додаванням наноаквацитратів срібла і міді 0,03 мг/дм^3				
з додаванням наноаквацитратів срібла і міді 0,05 мг/дм^3				
з додаванням наноаквацитратів срібла і міді 0,08 мг/дм^3	0	3	0	6
з додаванням наноаквацитратів срібла і міді 0,1 мг/дм^3	00			

Дослідження впливу наноаквацитратів срібла і суміші срібла та міді на розмірно-масові показники корінців цибулі (*Allium cepa*) виявили наступні результати: при пророщуванні цибулі в водах з різним сольовим складом без наноаквацитратів змін розмірно-масових показників майже не відбувалося; при додаванні наноаквацитратів до штучної воді достовірних змін в довжині проростків корінців не спостерігалося і було зафіксовано невелике зменшення масових показників, у той час, як при пророщуванні цибулі в ставковій воді з додаванням наноаквацитратів відбувалася стимуляція росту (див. рис.1-2).

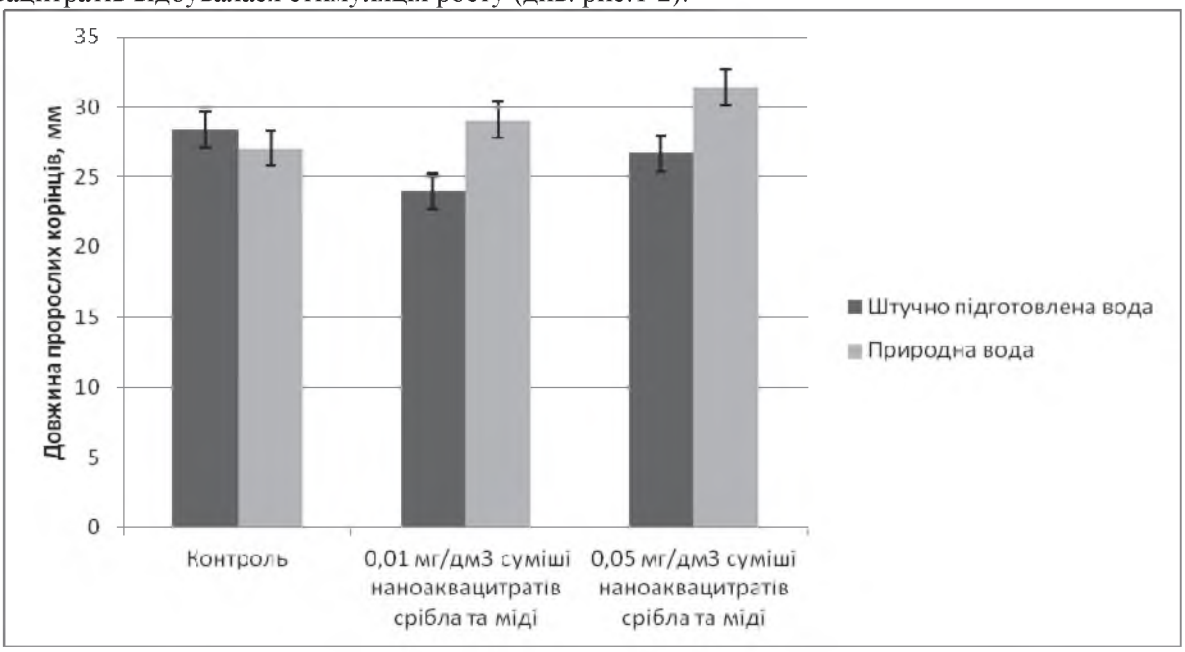

Рис 1. Порівняльна характеристика середньої довжини проростків корінців цибулі при додаванні наноаквацитратів.

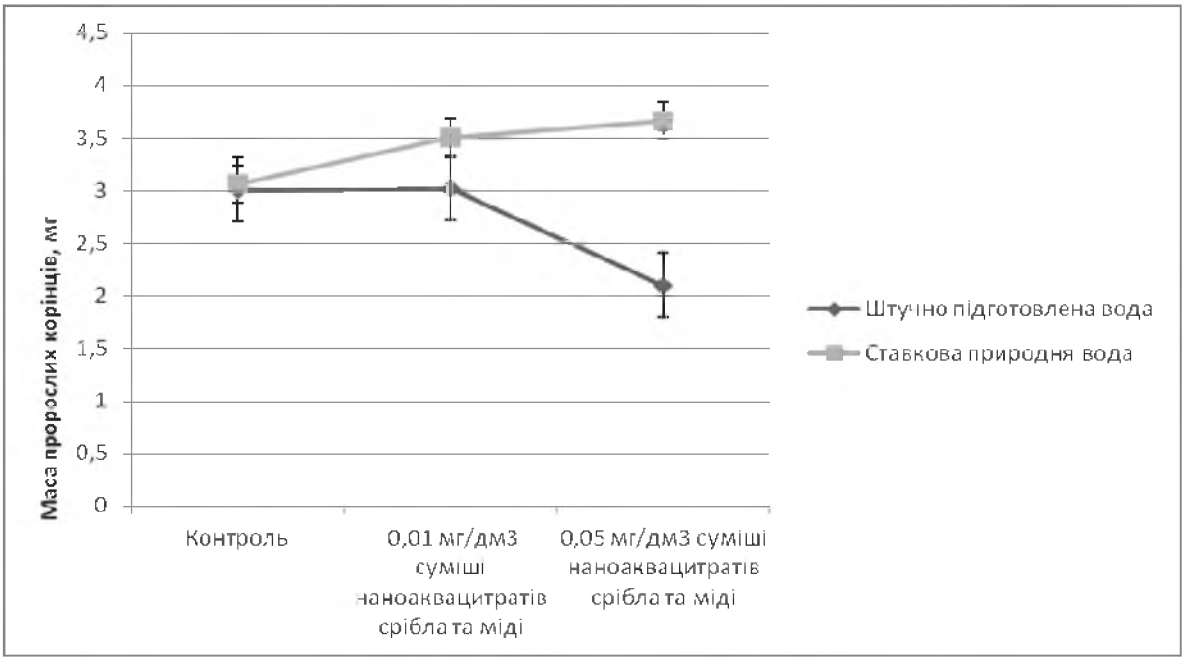

Рис. 2. Порівняльна характеристика сумарної маси корінців цибулі при додаванні наноаквацитратів.

Встановлено, що токсична дія більшості важких металів, зокрема міді та срібла на гідробіонтів, обумовлена іонами. Їх концентровані сольові розчини порушують функції органів дихання у тварин. У слабких розчинах, потрапляючи до організму, важкі метали блокують

проникність біологічних мембран, знижують вміст розчинних протеїнів, зв'язуються з сульфгідрильними і аміногрупами білків, викликаючи пригнічення активності ферментів [11]

Виявлено, що наноматеріали срібла і міді володіють як біогенною, так і бактерицидною активністю щодо збудників хвороб, і в той же час, на відміну від іонних форм відповідних металів, не виявляють токсичної дії [7].

Оскільки за [4], токсичність наночасток металів у багато разів нижча від токсичності їх іонів, отриманих із застосуванням солей, використання наноаквацитратів металів є перспективним і економічно доцільним застосуванням при знезараженні води та при лікуванні і попередженню хвороб риб бактеріологічної етіології. Отримані результати біотестування свідчать про перспективи можливого практичного застосування наноаквацитратів срібла та міді як препаратів комплексної і антибактеріальної дії.

Висновки

За результатами біотестування за допомогою тваринних і рослинних тест-організмів встановлено, що концентрації наноаквацитратів 0,02 мг/дм^3 для штучно підготовленої води і 0,05 мг/дм^3 для ставкової води не викликали летальних наслідків у всіх тест-об'єктів. Залишається відкритим питання щодо нетоксичної дози наноаквацитратів для ракоподібних дафній: всі концентрації препаратів викликали летальний ефект, що пояснюється порушенням фільтруючих здібностей їх організму. В цілому, результати досліджень свідчать про можливість використання наноаквацитратів в акваріумістиці і рибному господарстві.

1. *Архипчук В.В.* Оценка качества природных вод методами биотестирования / В.В. Архипчук, В.В. Гончарук // Химия и технология воды. — 2004. — Т. 26, № 5. — С.485—525.
2. *Архипчук В.В.* Применение комплексного подхода в биотестировании природных вод / В.В. Архипчук, М.В. Малиновская // Химия и технология воды. — 2000. — Т. 22, № 4. — С.428—444.
3. *Гончарук В.В.* Теоретические аспекты биотестирования природных и питьевых вод / В.В. Гончарук, В.Ф. Коваленко // Химия и технология воды. — 2012. — Т. 34, № 2. — С. 171—178.
4. *Использование* биологических активных препаратов на основе наночастиц металлов в медицине и сельском хозяйстве / Глущенко Н.Н., Арсентьева И.П., Павлов Г.В., Фолманис Г.Э. // В кн.:Индустрия наносистем и материалы: оценка нынешнего состояния и перспективы развития. — М.: Центр «Открытая экономика», 2006. — С. 26—33.
5. *Каркищенко Н.Н.* Нанобезопасность: новые подходы к оценке рисков и токсичности наноматериалов / Н.Н. Каркищенко // Биомедицина. — 2009. — № 1. — С.5—28.
6. *Колесниченко А.В.* Токсичность наноматериалов – 15 лет исследований / Колесниченко А.В., Тимофеев М.А., Протопопова М.В. // Российские нанотехнологии. — 2008. — Т. 3, № 3-4. — С. 54—61.
7. *Копілевич В.А.* Функціональні нанобіоматеріали для потреб сільського господарства / В.А. Копілевич, В.І. Максін, В.Г. Каплуненко, М.В. Косінов // Науковий вісник Національного аграрного університету. — 2008. — № 130. — С. 349—354.
8. *Кравченко О.О.,* Антибактеріальна активність наноаквахелатів щодо збудників хвороб риб / Кравченко О.О., Максін В.І., Вовк Н.І., Каплуненко В.Г. // Біоресурси та природокористування. — 2012. — Т. 4, № 3-4. — С.44—48.
9. *Пат. 39392* Україна, МПК C07C 51/41, C07F 5/00, C07F 15/00, B82B 3/00. Спосіб отримання карбоксилатів харчових кислот з використанням нанотехнології. / Косінов М. В., Каплуненко В. Г.: Опубл. 25.02.2009, бюл. № 4.
10. *Черкашин С.А.* Биотестирование: терминология, задачи, основные требования и применение в рыбохозяйственной токсиколог. / С.А. Черкашин. // Известия ТИНРО (Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра). — 2001. — Т. 128, № 1-3. — С.1020—1035.
11. *Чернавина И.А.* Физиология и биохимия микроэлементов / И.А. Чернавина. — М.: Высшая школа, 1970. — 309 с
12. *Singh Surya*, Nalwa Hari Singh. Nanotechnology and Health Safety - Toxicity and Risk Assessments of Nanostructured Materials on Human Health / Singh Surya // Journal of Nanoscience and Nanotechnology. —2007. —Vol. 7, № 9. —P. 3048—3070.

О.А. Кравченко[1], В.И. Максин[1], В.Ф. Коваленко[2]
[1]Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины
[2]Институт коллоидной химии и химии воды им. А.В. Думанского НАН Украины.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ НАНОАКВАЦИТРАТОВ СЕРЕБРА И МЕДИ С ПОМОЩЬЮ ТЕСТ-ОРГАНИЗМОВ РАЗЛИЧНЫХ ТРОФИЧЕСКИХ УРОВНЕЙ

С помощью методов биотестирования исследована степень токсичности наноаквацитратов серебра и смеси наноаквацитратов меди и серебра с концентрацией 0,01-0,3 мг/дм^3 при внесении в воды различного происхождении. Показано, что исследуемые концентрации наноаквацитратов серебра и смеси серебра и меди проявляют острую токсичность для биоты при 0,02 мг/дм^3 для искусственной воды и 0,05 мг/дм^3 для природной воды. Исключение составляют ракообразные дафнии (*D.magna*), для которых все исследуемые концентрации исследуемых препаратов оказались летальными. Такую высокую чувствительность к действию этих веществ можно объяснить нарушением наночастицами фильтрующих способностей их организма.

Ключевые слова: искусственная и природная вода, наноаквацитраты, биотестирование, тест-организмы

O.O. Kravchenko[1], V.I. Maksin[1], V.F. Kovalenko[2]
[1]National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
[2]Institute of Colloid Chemistry and Water Chemistry. A.V.Dumanskoho National Academy of Sciences of Ukraine.

DETERMINATION OF SILVER AND COPPER NANOAQUAHELATES TOXICITY USING TEST ORGANISMS OF DIFFERENT TROPHIC LEVELS

The toxicity degree of silver and mixture of silver and copper nanoaquahelates at a concentration of 0.01-0.3 mg/L, prepared with artificial and natural (pond) water using biological testing methods has been estimated. It was shown that the tested concentration of silver and copper nanoaquahelates mixtures have a acute toxic effect to the biota within the concentrations of 0.02 mg/dm^3 for artificial and 0.05 mg/dm^3 for natural water respectively.

The exception was D.magna for which all tested concentrations of silver and a mixture of silver and copper nanoaquahelates were fatal. Such a high sensitivity to these substances can be explained via disturbing of their body filtering abilities by nanoparticles.

Keywords: artificial and natural water, nanoakvatsytraty, nanoaquahelates, the test organisms

Рекомендує до друку
В.З. Курант

Надійшла 22.03.2013