

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ НИКЕЛЯ НА ИСКУССТВЕННЫЕ АКВАБИОЦЕНОЗЫ

Аринжанов А.Е., Мирошникова Е.П., Килякова Ю.В., Лядова А.Ю.,
Кушнарев А.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждения высшего образования
«Оренбургский государственный университет», г. Оренбург

Использование нанотехнологий и наноматериалов рассматривается в настоящее время как новая промышленная революция, происходящая в XXI веке. Уникальные свойства, которые приобретают вещества традиционного химического состава в форме наночастиц, открывают широкие перспективы в целенаправленном получении материалов с новыми свойствами, такими как уникальная механическая прочность, особые спектральные, электрические, магнитные, химические, биологические характеристики [5, 9, 12].

В ближайшей перспективе следует ожидать резкого увеличения объёмов производства во всём мире, и, в частности, в России, ряда приоритетных наноматериалов, в частности таких, как наночастицы оксидов кремния, титана, цинка, железа, церия, алюминия, металлические наночастицы железа, меди, кобальта, никеля, алюминия, серебра, золота, углеродные нанотрубки, фуллерены, наночастицы биополимеров и рекомбинантных вирусов [2, 10]. Это с неизбежностью приведёт к поступлению значительных количеств наноматериалов в окружающую среду, их накоплению в компонентах биоты и абиотических средах с последующей возможной передачей человеку [4, 13].

В этой связи перспективными представляются исследования направленные на изучение действия наноматериалов.

Материалы и методы исследований

В качестве тест-объектов были использованы следующие тест-объекты: ряска малая (*Lemna minor L.*) с зелеными лопастями и с корнями, не имеющими видимых повреждений, прудовик обыкновенный (*Limnea stagnalis*), данио-рерио (*Danio rerio*) в возрасте 2 месяцев без каких-либо признаков заболевания.

Условия выращивания и содержания объектов исследования соответствовало правилам OECD (1992) [7].

В исследованиях были использованы наночастицы Ni ($d=70$ нм), полученные методом электрического взрыва проводника в атмосфере воздуха и NiO ($d=94$ нм), полученные методом плазмохимического синтеза («Передовые порошковые технологии», Россия).

Подготовку препарата наночастиц проводили на ультразвуковом диспергаторе ($f=35$ кГц, $N=300$ Вт, $A=10$ мкА), путем диспергирования в течение 30 минут. Действие веществ исследовались в широком спектре концентраций: Ni ($0,01 - 1$ мг/дм³), NiO ($0,013 - 1,3$ мг/дм³).

Наночастицы вводили через корма для рыб (замороженные личинки комаров семейства Chironomidae) один раз в 7 суток [11].

В период исследований учитывали внешний вид, поведение, выживаемость гидробионтов [8].

Содержание в тканях рыб и моллюсков химических элементов исследовали в лаборатории АНО «Центра биотической медицины», г. Москва (аттестат аккредитации №РОСС RU.0001.22ПЯ05).

Статистический анализ проводили с использованием стандартных методик ANOVA, с последующим использованием критерия Тьюки (SPSS вер. 17,0). Различия считались статистически достоверными при $P < 0,05$.

Результаты исследований

Анализ полученных данных выявил различные эффекты воздействия наночастиц никеля и его оксида на тест-объекты (таблица 1, 2).

В группе с наночастицами NiO к концу эксперимента во всех исследуемых концентрациях была зафиксирована 100 % гибель *Danio rerio*. Наблюдалась тенденция к подъему рыб в поверхностные слои аквариума, для рыб было характерно дискоординация движения, а незадолго до гибели большая часть рыб опускалась на дно аквариума – состояние агонии. Подобную картину выживаемости рыб наблюдали Kovřížnych J.A., и др. [6] при концентрации наночастиц NiO - 100 мг/дм³.

Таблица 1. Эффекты воздействия наночастиц на *Danio rerio*

Вещество	n, мг/дм ³	Дозировка, мг/дм ³		
		n	10n	100n
Время контакта: 28 суток				
Контроль	-	NOEC	NOEC	NOEC
Ni	0,01	NOEC	NOEC	NOEC
NiO	0,013	NOEC	NOEC	NOEC
Время контакта: 56 суток				
Контроль	-	NOEC	NOEC	NOEC
Ni	0,01	NOEC	NOEC	NOEC
NiO	0,013	NOEC	NOEC	NOEC
Время контакта: 90 суток				
Контроль	-	NOEC	NOEC	NOEC
Ni	0,01	NOEC	NOEC	LOEC
NiO	0,013	Tox	Tox	Tox

Примечание: Tox – концентрации, вызывающие 0-39 % выживаемости объекта; LC50 – концентрация, вызывающая 50% выживаемости объекта; LOEC – концентрация, вызывающая 40-69% выживаемости объекта; NOEC – концентрации, вызывающие 70-100% выживаемости объекта [3].

Limnea stagnalis в отличие от рыб характеризовались более высокой степенью токсикорезистентностью к наночастицам металлов, что может быть обусловлено развитым механизмом детоксификации и регуляции ионного обмена [1]: 100 % смертность зарегистрирована лишь на 90 сутки эксперимента для наночастиц NiO концентрацией 1,3 мг/дм³.

Общее состояние *Lemna minor* для всех групп (изменение окраски, размер лопастей, состояние корней) было в пределах нормы.

Анализ элементного статуса рыб и моллюсков на 7 и 28 сутки эксперимента при действии наночастиц Ni и NiO, дозировкой 1,0 и 1,3 мг/дм³, соответственно, показал схожий рисунок действия наночастиц.

Особенно стоит отметить изменения содержания никеля в теле анализируемых объектов. Так, если на 7 неделе эксперимента в теле *Danio rerio* при добавлении наночастиц Ni и NiO зафиксировано достоверное увеличение по сравнению с контролем на 95,8 % и 849 %, соответственно, то на 28 неделе уже констатировали уменьшения содержания никеля на 19 % и 44 %, соответственно. При этом уровень никеля на 28 сутки по сравнению с 7 сутками в организме рыб снизился при добавлении наночастиц Ni в 2 раза, а при добавлении наночастиц NiO почти в 15 раз. И главную роль в этом сыграли *Limnea stagnalis*, так как они в активно вовлечены в трофические отношения между гидробионтами, участвуют в процессах самоочищения водоёмов.

Таблица 2. Эффекты воздействия наночастиц на *Limnea stagnalis*

Вещество	n, мг/дм ³	Дозировка, мг/дм ³		
		n	10n	100n
Время контакта: 28 суток				
Контроль	-	NOEC	NOEC	NOEC
Ni	0,01	NOEC	NOEC	NOEC
NiO	0,013	NOEC	NOEC	NOEC
Время контакта: 56 суток				
Контроль	-	NOEC	NOEC	NOEC
Ni	0,01	NOEC	NOEC	NOEC
NiO	0,013	NOEC	NOEC	NOEC
Время контакта: 90 суток				
Контроль	-	NOEC	NOEC	NOEC
Ni	0,01	NOEC	NOEC	NOEC
NiO	0,013	NOEC	NOEC	Tox

Примечание: Tox – концентрации, вызывающие 0-39 % выживаемости объекта; LC50 – концентрация, вызывающая 50% выживаемости объекта; LOEC – концентрация, вызывающая 40-69% выживаемости объекта; NOEC – концентрации, вызывающие 70-100% выживаемости объекта.

Анализ элементного состава *Limnea stagnalis* показал, что на 7 сутки эксперимента уровень никеля при добавлении наночастиц NiO было выше контроля на 760 %, а при добавлении наночастиц Ni – на 1390 %, а на 28 сутки содержание никеля уже было выше контроля на 854 % - при добавлении наночастиц Ni и на 2654 % - при добавлении наночастиц NiO. При этом наблюдали увеличение содержания никеля на 28 сутки по сравнению с 7 сутками при добавлении наночастиц NiO в 3,8 раза.

Проведенные эксперименты свидетельствуют о том, что биотестирование наноматериалов в условиях искусственно созданных аквабиоценозов с одновременным использованием нескольких тест-объектов позволяет широко оценить токсичность наноматериалов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда №14-36-00023.

Список литературы

1. *A comparative study on the internal defence system of juvenile and adult Lymnaea stagnalis* / R. Dikkeboom, W. P. Van der Knaap, E. A. Meuleman, T. A. Sminia // *Immunology*. - 1985. - Vol. 55. - № 3. - P. 547–553.
2. *Behrens, S. Preparation of functional magnetic nanocomposites and hybrid materials: recent progress and future directions* / S. Behrens // *Nanoscale*. – 2011. - № 3. - P.877–922.
3. *Bioaccumulation and ecotoxicity of carbon nanotubes* / P. Jackson, N. Raun Jacobsen, A. Baun, R. Birkedal, D. Kühnel, K. Alstrup Jensen, U. Vogel, H. Wallin // *Chemistry Central Journal*. - 2013. - №7(1). – P.154
4. *Colvin, V.L. The potential environmental impact of engineered nanomaterials* / V.L. Colvin // *Nature Biotechnol.* – 2003. - № 21. – P.1166–1170.
5. *Influence of Ni NP on the induction of oxidative damage in eriticum vulgare* / A. M. Korotkova, E. A. Sizova, S. V. Lebedev, N. N. Zyazin // *Oriental journal of chemistry*. - 2015. - Vol. 31, Number Special Issue. - Pg. 137-145.
6. *Long-term (30 days) toxicity of NiO nanoparticles for adult zebrafish Danio rerio* / J.A. Kovrižnych, R. Sotníková, D. Zeljenková, E. Rollerová, E. Szabová // *Interdiscip Toxicol.* – 2014 - Mar;7(1). - P.23-26.
7. *OECD, Guideline for Testing of Chemicals, Guideline 203. Fish, Acute Toxicity Test, Organization of Economic Cooperation, Development, Paris, France, 1992. - 9 pp.*
8. *Sistrom, C.L. Proportions, odds, and risk* / C.L. Sistrom, C. W. Garvan // *Radiology*. - 2004. - vol.230. - №.1. - P.12–19
9. *Subbiah, R. Nanoparticles: functionalization and multifunctional applications in biomedical sciences* / R. Subbiah, M. Veerapandian, K. Yun // *Curr Med Chem*. - 2010 - № 17. – P.4559–4577.
10. *Toxic potential of materials at the nanolevel* / A. Nel, T. Xia, L. Madler, N. Li // *Science*. – 2006. – № 311. – P. 622–627
11. *Transfer of silica-coated magnetic (Fe₃O₄) nanoparticles through food: a molecular and morphological study in zebrafish* / C.C. Piccinetti, C. Montis, M. Bonini, R. Laurà, M.C. Guerrera, G. Radaelli, F. Vianello, V. Santinelli, F. Maradonna, V. Nozzi, A. Miccoli, I. Olivotto // *Zebrafish*. – 2014. - Dec;11(6). – P. 567-579.
12. *Yausheva, E. Evaluation of biogenic characteristics of iron nanoparticles and its alloys in vitro* / E. Yausheva, E. Sizova, S. Miroshnikov // *Modern Applied Science*, 2015. - Vol. 9, Iss. 9. - P. 65-71.

13. Zhang, W.X. *Nanoscale Environmental Science and Technology: Challenges and Opportunities* / W.X. Zhang, B. Karn // *Environ Sci Technol.* – 2005. - №39. – P. 94A–95A