

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

**ТОКСИЧНОСТЬ ИОНОВ, НАНО- И МИКРОЧАСТИЦ МЕДИ  
В БИОТЕСТАХ РАЗЛИЧНОГО УРОВНЯ ОРГАНИЗАЦИИ**

**TOXICITY OF COPPER IONS, MICRO- AND NANOPARTICLES:  
COMPARATIVE STUDY ON DIFFERENT BIOTESTS**

Т.Д. Дерябина

T.D. Dryabina

ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет»

Orenburg State University, Orenburg, Russia

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** медь; ионы, микрочастицы, наночастицы; биотоксичность; биотесты на бактериях, животных и растениях.

**KEYWORDS:** cooper; ions, microparticles, nanoparticles; biotoxicity; microbial-, animal- and plant-based biotests.

**РЕЗЮМЕ.** С учетом данных, полученных в биотестах на бактериях, животных и растениях, дана сравнительная оценка биотоксичности меди в ионной и металлической (нано- и микропоразмерной) формах. Показано, что биотесты различного уровня организации дают согласованную оценку токсичности меди, возрастающую в ряду микро-частицы → наночастицы → ионы. Установлено, что наибольшей чувствительностью к тестируемым соединениям меди характеризуются бактерии (в тесте ингибирования биолюминесценции *Escherichia coli lux+*), а наименьшей – растения (в тесте прорастания семян *Triticum aestivum*).

**ABSTRACT.** Biototoxicity of ionic and metal (nano- and microdimensional) forms of copper have been comparatively tested on bacterial, animal and plant models. The used biotests have shown the coordinated copper toxicity increasing among microparticle → nanoparticles → ions. The microbial-based biotests (*Escherichia coli lux + bioluminescence inhibition*) was a most sensitive to copper toxicity while the plant-based biotest (*Triticum aestivum seeds germination*) was the steadiest.

**ВВЕДЕНИЕ**

Существование химических элементов возможно в двух основных формах: электронейтральной (ноль-валентной) и заряженной (ионной). При этом их биологическая активность традиционно связывается с таковой у ионов, формирующих в воде истинные растворы, перемещаемых через цитоплазматические мембраны с участием пассивных и активных механизмов, а также формирующих функциональные комплексы с множеством биополимеров, включая нуклеиновые кисло-

ты и ферментные белки (Скальный, Рудаков, 2004). На этом фоне интерес к исследованию биологической активности ноль-валентных состояний химических элементов (в первую очередь – металлов) сформировался относительно недавно, будучи связанным с разработкой технологий получения и использования их высокодисперсных микро- и наночастиц (Егорова, 2004). Одновременно ожидается увеличение объемов производства и поступления наночастиц металлов в природные экосистемы и среду обитания человека определяет задачу детальной оценки биологической безопасности подобных соединений, их санитарно-гигиенического и экологического нормирования (Gottschalk et al., 2009).

По современным представлениям наиболее адекватным решением данной задачи является использование биотестов различного уровня организации, позволяющих получить комплексную оценку последствий воздействия наночастиц и наноматериалов на наиболее значимые компоненты природных экосистем (Heinlaan et al., 2008). В Российской Федерации подобный методический подход закреплен в МУ 1.2. 2635-10 «Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов» (2010) и МУ 1.2.2634-10 «Микробиологическая и молекулярно-генетическая оценка воздействия наноматериалов на представителей микро-биоценоза» (2010), а также ряде других нормативных документах, разработанных Федеральным Центром гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора.

В рамках данной концепции целью настоящей работы явился сравнительный анализ токсичности ионов, нано- и микрочастиц меди, оцененной с использованием бактериальных (Дерябин с соавт., 2011) и растительных (Дерябина, 2011) биотестов, а также с привлечением известных данных о подобной активности в отношении лабораторных животных.

Материалом для исследования явились соли  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  или  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; наночастицы меди сферической формы диаметром 103 или 23,5 нм, а также микрочастицы этого металла диаметром 40 или 17 мкм. Исследование их токсичности в отношении микроорганизмов было проведено в тесте ингибирования биолюминесценции генноинженерного штамма *Escherichia coli*, конститутивно экспрессирующего *luxCDABE*-гены морского микроорганизма *Photobacterium leiognathi* (тест-система «Эколюм», ЗАО «НВО Иммунотех», Москва) и рекомендуемого для этих целей МУ 1.2.2634-10 (2010). Исследование влияния ионов, нано- и микрочастиц меди на растения проводилось в тесте подавления прорастания семян пшеницы *Triticum aestivum*, рекомендуемом для заявленных целей МУ 1.2.2635-10 (2010). При оценке токсичности в отношении животных учитывались результаты Chen Z. et al. (2006), полученные при их пероральном введении 8-недельным лабораторным мышам весом 20–22 г. Полученные результаты были представлены в виде молярного содержания тестируемых соединений меди, вызывающего 50% подавление результативного признака: бактериальной биолюминесценции, прорастания семян ( $\text{EC}_{50}$ ) или гибели лабораторных животных ( $\text{LD}_{50}$ ).

Сопоставление результатов, полученных с использованием биотестов различного уровня организации (таблица) позволило дать комплексную сравнительную оценку биотоксичности меди, особенностью которой явилась констатация двух ключевых моментов.

Во-первых, во всех биотестах исследованные формы меди могли быть однозначно ранжированы по степени токсичности, возрастающей в ряду микрочастицы → наночастицы → ионы. При этом биологическая активность наночастиц меди уступала таковой у ионных форм в 4–25 раз, а микро-

частицы оказывались в 12–50 раз менее биологически активными, чем наночастицы. Таким образом, как переход от ионной к ноль-валентной форме, так и увеличение размера частиц металлической меди от нано- до микрометрового диапазона сопровождалось порядковым снижением биологической активности, что должно учитываться при установлении класса их острой токсичности. Этот факт позволяет прогнозировать аналогичную тенденцию для других металлических элементов.

Во-вторых, использованные биотесты проявляли количественно различную чувствительность к токсическому воздействию соединений меди, возрастающую в ряду растения → животные → бактерии. При этом основной причиной подобных различий представляется наличие у высших организмов мощных антиоксидантных систем, направленных на обезвреживание тяжелых металлов и их соединений. На этом фоне бактериальные биотесты оказывались в 4–28 раз (по сравнению с животными) и в 67 раз (по сравнению с растениями) более чувствительными к повреждающему действию тестируемых соединений меди, что развивает представление о них как наиболее быстром и эффективном инструменте оценки интегральной биотоксичности широкого круга веществ и соединений.

Практически-ориентированный результат проведенного исследования заключается в определении интервалов между концентрациями тестируемых соединений, оказывающими токсическое воздействие на бактерии и высшие организмы. Так, относительная узость подобных интервалов в системе «животное-бактерия» делает проблематичным использование ионов и наночастиц меди для лечения и профилактики бактериальных инфекций человека и животных, одновременно сохраняя эту возможность в системе «растение-бактерия». При этом, если протравливание ионами  $\text{Cu}^{2+}$  уже с начала XX века стало распространенным методом предпосевной защиты растений, то результаты настоящего исследования свидетельствуют о возможности реализации аналогичного подхода и с использованием наночастиц меди, практически лишенных фитотоксичности, но сохранивших присущую данному металлу антибактериальную активность.

**Таблица. Значения параметров  $\text{EC}_{50}$  и  $\text{LD}_{50}$  (М), определенные при оценке токсичности ионов, нано- и микрочастиц меди в биотестах различного уровня организации**

Тестируемые формы Cu	Объекты воздействия / биотесты		
	Бактерии / ингибирование биолюминесценции <i>E. coli luxCDABE</i>	Животные / летальность у мышей	Растения / подавление прорастания семян <i>T. aestivum</i>
Ионы $\text{Cu}^{2+}$	0,00006	0,0017	0,004
Наночастицы	0,0015	0,0065	> 0,1
Микрочастицы	0,075	> 0,1	> 0,1

### ЛИТЕРАТУРА

Дерябина Т.Д. Оценка безопасности ионов, нано- и микрочастиц Fe и Cu в тесте прорастания семян *Triticum aestivum* // Вестник Оренбургского государственного университета. 2011. № 12. С. 386–389

Дерябин Д.Г., Алешина Е.С., Дерябина Т.Д., Ефремова Л.В. Биологическая активность ионов, нано- и микрочастиц Cu и Fe в тесте ингибирования бактериальной биолюминесценции // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2011. № 6. С. 31–36.

Егорова Е.М. Наночастицы металлов в растворах: биохимический синтез и применение // Нанотехника. 2004. № 1. С. 15–26.

МУ 1.2. 2635-10 «Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов». М.: Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010.

МУ 1.2.2634-10 «Микробиологическая и молекулярно-генетическая оценка воздействия нано-

материалов на представителей микробиоценоза». М.: Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010.

Скальный А.В., Рудаков И.А. Биоэлементы в медицине. М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век», 2004. 272 с.

Chen Z., Meng H., Xing G. et al. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo // Toxicology Letters. 2006, 163:109–120

Gottschalk F., Sonderer T., Scholz R.W., Nowack B. Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO<sub>2</sub>, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for different regions // Environ. Sci. Technol. 2009, 43(24):9216–9222.

Heinlaan M., Ivask A., Blinova I. et al. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus* // Chemosphere. 2008, 71(7):1308–1316.