

УДК 574.522; 615.468.7

## Оценка токсичности наноструктурного оксигидроксида алюминия с помощью гидробионтов

Н. В. СВАРОВСКАЯ, О. В. БАКИНА, Е. А. ГЛАЗКОВА, М. И. ЛЕРНЕР, А. С. ЛОЖКОМОВ, А. Н. СЕРОВА, Е. Г. ХОРОБРАЯ

*Институт физики прочности и материаловедения Сибирского отделения РАН, проспект Академический, 2/4, Томск 634021 (Россия)**E-mail: nvsv@ispms.tsc.ru*

(Поступила 07.12.12; после доработки 20.05.13)

### Аннотация

Исследована токсичность водных вытяжек из сорбционного материала, содержащего модифицированные коллоидным серебром и не модифицированные частицы наноструктурного оксигидроксида алюминия, по отношению к дафниям и люминесцирующим бактериям. Установлено, что токсичность водных вытяжек обусловлена присутствием ионов  $Al^{3+}$ , мигрирующих в воду с низким солесодержанием, и олигодинамическим действием серебра.

**Ключевые слова:** наноструктурный оксигидроксид алюминия, токсичность, биотестирование, *Daphnia Magna Straus*, *Vibrio fischeri*, коллоидное серебро, ионы алюминия

### ВВЕДЕНИЕ

Изучение возможного негативного влияния на организм человека наночастиц и материалов на их основе в последние годы становится актуальным. С одной стороны, уникальные свойства наноматериалов позволяют достигать качественно новых результатов в медицине для направленной доставки лекарственных препаратов, получения биосенсоров, при создании перевязочных средств с ранозаживляющими, бактерицидными, гемостатическими свойствами. С другой стороны, налицо потенциальный риск от применения наночастиц, связанный с их высокой проникающей способностью и химической активностью. В настоящее время токсичность наночастиц и наноматериалов определяется с использованием тестов на микроорганизмах, клеточных культурах и гидробионтах [1–8].

При использовании сорбционного материала, содержащего наноструктурный оксигидроксид алюминия для очистки воды или в качестве перевязочного средства [9, 10] важ-

ное значение имеют вопросы, связанные с возможностью миграции наночастиц из сорбента в окружающую среду и их потенциальной опасностью для организма.

Целью настоящей работы было изучение способности наночастиц мигрировать из материала в водные среды и токсичности полученных водных вытяжек, обусловленной наличием в них отдельных нанопластин, их агломератов и растворенных компонентов сорбционного материала, по отношению к гидробионтам.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для исследований использовали два типа материала, полученных по методике [10]. Материал без серебра представлял собой нетканый материал из ацетатцеллюлозных волокон (АЦ) диаметром 1–3 мкм, на поверхности и в межволоконном пространстве которых иммобилизованы нанопластины оксигидроксида алюминия размером 100–200 и толщиной 2–5 нм, агломерированные в коралловидные

структуры размером 0.5–5.0 мкм. Материал с серебром дополнительно содержал частицы коллоидного серебра (0.02 %) размером 15–20 нм, адсорбированные на оксигидроксида алюминия.

Среднечисленное и среднемассовое распределение частиц по размерам определяли с помощью дисковой центрифуги CPS DC 24000. Мутность водных вытяжек определяли по методике, описанной в работе [11], концентрации алюминия – по методике [12].

Водные вытяжки готовили следующим образом. Образцы материалов массой 60 г каждый помещали в стеклянные стаканы с 1200 мл дистиллированной или дехлорированной аэрированной водопроводной воды, закрывали стеклом для уменьшения испарения воды и оставляли при температуре 24 °С и естественном освещении на 5 сут. Раз в сутки содержимое стаканов перемешивали встряхиванием. Через 5 сут экспозиции по 1000 мл воды из каждого стакана декантировали и фильтровали через промытый горячей дистиллированной водой бумажный фильтр “белая лента” для удаления агрегированных частиц оксигидроксида алюминия и микроволокон полимерной матрицы. В качестве контроля использовали дистиллированную или дехлорированную аэрированную водопроводную воду, выдержанную в таких же условиях (24 °С, 5 сут). Вытяжки на основе дистиллированной воды перед биотестированием кондиционировали добавкой NaCl до уровня общего содержания 100 мг/л.

Биотестирование для получения достоверных результатов проводили на двух тест-объектах – простейших ракообразных *Daphnia Magna Straus* и люминесцентной бактерии *Vibrio fischeri* NRRL-B-11177.

Токсичность водных вытяжек на *Daphnia Magna Straus* проводили по методике ФР.1.39.2001.00283.

Тесты на *Vibrio fischeri* проводили согласно стандарту ISO 11348-2, 2007. Люминесценцию измеряли с помощью люцинометра (Lumistox) при (15±0.2) °С. Разведение водных вытяжек осуществляли 2 % раствором NaCl; кислотность раствора доводили до значений pH 7.0 с помощью растворов 0.1 М NaOH или 0.1 М HCl. Концентрация растворенного кислорода в исследованных пробах составляла 8–9 мг/дм<sup>3</sup>. В качестве эталонного вещества (сравнения) использовали 7.5 % раствор NaCl.

Концентрация растворенного кислорода в исследуемых пробах во время всех экспериментов превышала 6 мг/дм<sup>3</sup>, pH 6.5–8.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первую очередь определены концентрация и размер частиц в водных вытяжках, мигрирующих из перевязочного материала. Установлено, что в дистиллированную и водопроводную воду мигрирует практически одинаковое количество частиц, причем размер почти 70 % частиц составляет 100–200 нм (рис. 1, а).

Эта величина соответствует размеру отдельного нанолита оксигидроксида алюминия. Условная концентрация частиц, рассчитанная по данным CPS, равна 2–4 мг/л. При этом массовая доля отдельных нанолитов составляет менее 1 % (см. рис. 1, б), а все остальное – это коралловидные агломераты нанолитов оксигидроксида алюминия размером 1.0–5.0 мкм [13].

Установлено, что концентрация Al<sup>3+</sup> в вытяжке на основе дистиллированной воды резко возрастает после 3 сут экспозиции:

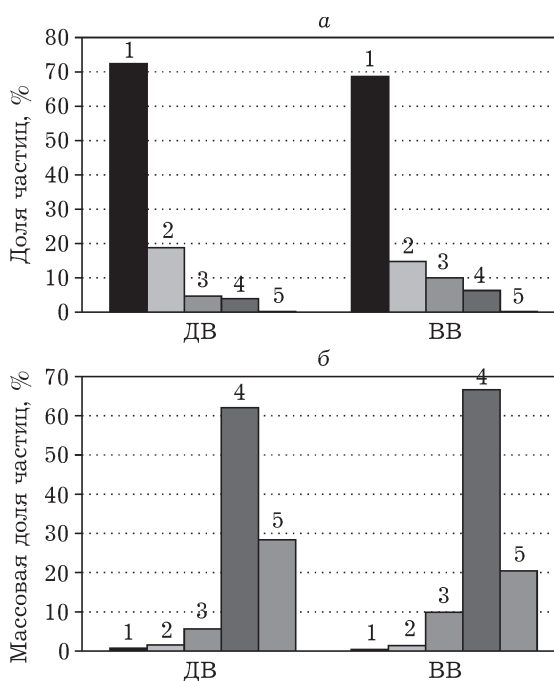


Рис. 1. Среднечисленное (а) и среднемассовое (б) распределение по размерам частиц оксигидроксида алюминия в водной вытяжке на основе дистиллированной (ДВ) и водопроводной (ВВ) воды. Размер частиц, мкм: 0.1–0.2 (1), 0.2–0.5 (2), 0.5–1.0 (3), 1.0–3.0 (4), 3.0–5.0 (5).

ТАБЛИЦА 1

Токсичность водных вытяжек из АЦ и материала без серебра по отношению к дафниям, % смертности

Образцы	Продолжительность наблюдения, ч									
	0.5	1	2	3	4	24	48	72	96	144
<i>Вытяжки на основе дистиллированной воды</i>										
Материал	20	70	10							
АЦ	0	10	0	10	0	10	20	10	20	20
Контроль	0	0	10	20	10	20	10	10	10	10
<i>Вытяжки на основе водопроводной воды</i>										
Материал	0	0	0	0	0	0	0	10	20	20
АЦ	0	0	0	0	0	0	0	10	10	30
Контроль	0	0	0	0	0	10	10	10	10	30

в 1-е сут она составила 0.22, 2-е – 0.28, 3-и – 0.30, 4-е – 2.92, 5-е – 2.90 мг/л. Напротив, в водопроводной воде она остается постоянной и не превышает 0.05 мг/л. Для вытяжки из АЦ и контрольных проб содержание алюминия меньше 0.2 мг/л. Увеличение концентрации алюминия происходит на фоне снижения мутности (7.3 ЕМФ после 1 сут, 2.0 ЕМФ на 2-е сут и далее – менее 0.01 ЕМФ), повышение которой наблюдалось непосредственно после помещения образцов материала в воду. Для проб вытяжки из АЦ и контрольных образцов мутность также составляла менее 0.01 ЕМФ. Следовательно, рост концентрации алюминия связан с миграцией иона  $Al^{3+}$  в воду.

Вытяжки из сорбционного материала на основе дистиллированной воды оказались токсичными для дафний, в отличие от вытяжек на основе водопроводной воды (табл. 1).

Концентрация наночастиц одинакова в обеих вытяжках, поэтому токсичность вытяжки на основе дистиллированной воды обусловлена, по-видимому, повышенной концентрацией иона алюминия.

Ранее было показано [14], что наночастицы оксигидроксида алюминия, аналогичные исследуемым в данной работе, оказывают токсическое действие на дафний в концентрациях 6–250 мг/л, а гидрофобизирующее покрытие снижает их токсичность. Возможно, снижение токсичности наночастиц с гидрофобизирующим покрытием связано со снижением их растворимости за счет защитного действия покрытия.

Ввиду того, что вытяжки на основе дистиллированной воды токсичны для гидробионтов, в дальнейшем исследовали вытяжки на основе водопроводной воды. Тест на дафниях использовался для оценки изменения токсичности частиц оксигидроксида алюминия при его модифицировании серебром. Установлено, что водные вытяжки, содержащие модифицированные серебром частицы оксигидроксида алюминия, оказывают слабое токсическое действие на дафний: при однократном разведении вытяжка была токсичной для дафний (100 % гибель за 24 и 96 ч эксперимента), при двукратном – за 24 ч погибло 50 % дафний, за 96 ч – 100 %, а при четырехкратном разведении в течение 24 ч вытяжка оказалась нетоксичной для дафний, а за 96 ч их гибель составила 20 %. Вытяжки из материала без серебра, как и в первом эксперименте, оказались нетоксичными.

Следует отметить хорошую сходимость результатов при тестировании на дафниях водных вытяжек из материалов обоих типов с использованием различной по составу водопроводной воды. Исследования проводились в ФГБУ НИИ ЭЧ и ГОС им. Сысина (Москва), СИГЭ-КиА ОГУ “Облкомприрода” (Томск) и Национальном институте химии (г. Любляна, Словения).

Второй тест-объект – люминесцентные бактерии – использовали только для тестирования водной вытяжки из материала с серебром, содержащего все интересующие компоненты и обладающего слабым токсическим действием по отношению к дафниям. Слабое токси-

ТАБЛИЦА 2

Токсичность водной вытяжки из материала с серебром по отношению к люминесцентным бактериям *Vibrio fischeri* после 30 мин контакта

Концентрация водной вытяжки, %	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	80	Контроль	Эталон
Средний показатель люминесценции	2.26	1.70	6.11	11.37	26.75	48.27	64.45	6.56	40

ческое действие водной вытяжки из материала с серебром проявлялось и в отношении люминесцентных бактерий (табл. 2). Из данных табл. 2 следует, что 50 % бактерий погибли после 30 мин контакта с разбавленной до 52.251 % водной вытяжкой. Это соответствует результатам, полученным при ее тестировании на дафниях.

Проведенные исследования позволяют сделать следующий вывод: хотя дистиллированная вода кажется предпочтительной средой для создания водных вытяжек, поскольку не содержит посторонних примесей, ее использование при оценке токсичности наночастиц приводит к искажению результатов. В дистиллированной воде наблюдается накопление токсичного для гидробионтов иона алюминия за счет растворения оксигидроксида алюминия. Кроме того, даже в случае добавки NaCl гибель дафний в ней наступает значительно раньше, чем в водопроводной воде (см. табл. 1). Это связано, вероятно, с отсутствием в дистиллированной воде важных для функционирования живых организмов растворенных солей, в первую очередь кальция и магния. Следовательно, в тесте на дистиллированной воде дафнии подвергаются суммарному действию токсичности тестируемого образца и неблагоприятной среды обитания.

Таким образом, наночастицы, токсическое действие которых обусловлено миграцией их компонентов в окружающую среду, будут проявлять существенно более низкую токсичность в растворах с высоким содержанием (нативная вода, биологические жидкости), нежели в дистиллированной воде, либо будут нетоксичными вовсе.

## ВЫВОДЫ

1. Нанопластины оксигидроксида алюминия и их агломераты размером 0.1–5.0 мкм в концентрации 2–4 мг/л не оказывают токсичес-

кого действия на гидробионты – дафний и люминесцентные бактерии.

2. Наночастицы оксигидроксида алюминия при контакте с дистиллированной водой медленно растворяются с выделением в воду иона  $Al^{3+}$ , и при длительной (более 5 сут) экспозиции вытяжка становится токсичной для гидробионтов.

3. Наночастицы оксигидроксида алюминия, модифицированные серебром, токсичны по отношению к дафниям и люминесцентным бактериям вследствие олигодинамического действия серебра

Работа выполнена при финансовой поддержке ГК № 14.527.12.0001

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Толстикова Т. Г., Морозова Е. А., Хвостов М. В., Лактионов П. П., Морозкин Е. С., Исмагилов З. Р., Подъячева О. Ю., Сысолятин С. В., Воровцов А. Б., Тухтаев Р. К., Варнаков Ч. Н. // Химия уст. разв. 2010. Т. 18, № 5. С. 527–534.
- 2 Heinlaan M., Ivask A., Blinov I., Dubourguier H.-Ch., Kahru A. // Chemosphere. 2008. Vol. 71, Issue 7. P. 1308–1316.
- 3 Jiang J., Oberdrster G., Elder A., Gelein R., Mercer P., Biswas P. // Nanotoxicology. 2008. Vol. 2, Issue 1. P. 33–42.
- 4 Napierska D., Thomassen L. C. J., Rabolli V., Lison D., Gonzalez L., Kirsch-Volders M., Martens J. A., Hoet P. H. // Small. 2009. Vol. 5, No. 7. P. 846–853.
- 5 Won Hyuk Suha, Kenneth S. Suslickb, Galen D. Stuckya, Yoo-Hun Suh // Progress in Neurobiology. 2009. Vol. 87. P. 133–170.
- 6 Xiaoshan Zhu, Lin Zhu, Yongsheng Chen, Shengyan Tian. // J. Nanopart. Res. 2009. Vol. 11. P. 67–75.
- 7 Андреев Г. Б., Минашкин В. М., Невский И. А., Путилов А. В. // Рос. хим. журн. 2008. Т. LII, № 5. С. 32–38.
- 8 Радилов А. С., Глушкова А. В., Дулов С. А. // Нанотехнологии и наука. 2009. № 1 (1). С. 86–89.
- 9 Пат. 2317843 РФ, 2008.
- 10 Пат. 2426557 РФ, 2011.
- 11 ГОСТ 3351–74. Вода питьевая. Методы определения вкуса, запаха, цветности и мутности.
- 12 ГОСТ 18165–89. Вода питьевая. Метод определения массовой концентрации алюминия.
- 13 Глазкова Е. А., Сваровская Н. В., Бакина О. В., Хоробрая Е. Г., Ложкомоев А. С., Лернер М. И. // Нанотехника. 2012. № 2 (30). С. 32–36.
- 14 Strigul N. S., Vaccari L., Galdun C., Wazne M., Braidia W., Christodoulatos C., Jasinkiewicz K. // Protection and Restoration of the Environment IX. Greece, Kefalonia, 29 June–3 July, 2008.