

УДК 549.67:61(042)

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ И АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА МИНЕРАЛЬНЫХ НАНОЧАСТИЦ

© 2009 К.С. Голохваст^{1,5}, А.М. Паничев², А.Н. Гульков^{1,7}, П.А. Никифоров³,
И.Г. Федотова⁴, А.А. Анисимова⁵, И.Э. Памирский⁶, Е.Г. Автомонов⁷

¹ Институт нефти и газа Дальневосточного государственного технического университета

² Тихоокеанский институт географии ДВО РАН

³ Институт механики, автоматизации и передовых технологий
Дальневосточного государственного технического университета

⁴ Центр эпидемиологии и гигиены в Приморском крае

⁵ Дальневосточный государственный университет

⁶ Амурская государственная медицинская академия

⁷ ЗАО ДВНИПИ-нефтегаз

Поступила в редакцию 9.11.2009

В статье обсуждаются экотоксикологические аспекты взаимодействия минеральных наночастиц и микроорганизмов. Показаны антимикробные свойства наночастиц цеолитов (размером около 500 нм) некоторых месторождений Дальнего Востока и Сибири России на культуру микроорганизмов.

Ключевые слова: *наночастицы, цеолит, антимикробное действие, нанотоксикология, экотоксикология*

Живые организмы постоянно испытывают на себе давление окружающей среды, и, в частности, минеральных факторов, находящихся в атмо-, гидро- и литосфере. Например, считается, что в воздухе планеты Земля взвешено более 20 млн. тонн минералов. В океанической пыли преобладают галит и сульфаты, в континентальной – кварц, частицы углерода, сульфаты, силикаты, алюмосиликаты, самородное железо, вюстит, сульфиды и многие другие [1, 8]. Мельчайшие частицы минералов, которые, поступая в организм живых организмов, не используются как компоненты энергетического или пластического обмена, все же могут изменять течение нормальных физиологических процессов. На сегодняшний день по данному вопросу накоплен достаточно обширный фактический материал [5, 11, 17]. Речь идет о частицах минералов с размером от нескольких нм (атмосферная пыль

и водная взвесь) до сантиметров (например, гастролиты птиц). Например, на высоте около 6 тыс. м над уровнем океана в 1 см³ воздуха содержится 20 наночастиц, а в городах на высоте около 100 м от земли их количество оценивается 45000/см³ [1]. В связи с развитием нанотехнологий существует потенциальная угроза попадания минеральных и металлических наночастиц в среду обитания животных и человека, и, в последнее время токсикологической опасности наночастиц специалисты из разных областей уделяют все больше внимания [3, 4, 9, 13, 14, 19, 20]. Минеральные наночастицы присутствуют в природе, но ввиду малых концентраций не оказывают значительного влияния на биоту [6].

Из литературных источников известно [7], что некоторые клетки (например, альвеолярные и перитониальные макрофаги и клетки инородных тел млекопитающих, гемоциты моллюсков) в норме могут фагоцитировать твердые, часто водонерастворимые, частицы размером до 5-10 мкм и менее. При нормальном функционировании организмов это относится к частицам минералов, пыли, сажи, летающих с вдыхаемым воздухом; частицам инородных тел (например, занозы), а также песка и почв, поглощаемых с пищей. В процессе эволюции живых организмов выработался довольно эффективный механизм очистки вдыхаемого воздуха: грубые частицы (более 5 мкм) оседают в каналах носоглотки, до 90% мелких частиц задерживается в верхних

Голохваст Кирилл Сергеевич, кандидат биологических наук, заместитель директора. E-mail: droory@mail.ru

Паничев Александр Михайлович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии и охраны животных

Гульков Александр Нефедович, доктор технических наук, профессор, директор

Никифоров Павел Александрович, кандидат технических наук, старший преподаватель кафедры технологии металлов и металловедения

Федотова Ирина Геннадьевна, заведующая лабораторией микробиологии

Анисимова Анна Алимовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры клеточной биологии

Памирский Игорь Эдуардович, ассистент кафедры биологической химии с курсом биоорганической химии

Автомонов Евгений Геннадьевич, стажер-исследователь

дыхательных путях и бронхах, из которых они удаляются вместе со слизью путем отхаркивания. Тем не менее определенная часть довольно крупных частиц (до 2 мкм) и около половины тонких (0,2-0,3 мкм) попадает в альвеолы и выстилает их поверхность, резко снижая эффективность обогащения крови кислородом [8]. Аэрочастицы, которые попали внутрь фагоцитирующих клеток, затем мигрируют в кровеносное русло и выводятся через кишечник. Минеральные частицы, попадающие в

организм животных через ротовое отверстие также выводятся через кишечник [16, 17]. Цеолитовые туфы содержат цеолит, полевой шпат, кварц, вулканическое стекло и являются одними из самых распространенных минералов на Земле.

Целью настоящего исследования было изучение влияния наночастиц цеолитсодержащих туфов некоторых месторождений на рост *E. coli*.

Таблица 1. Микробиологические свойства цеолитов. Среда Эндо

| Группы / Разведение | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁷ |
|------------------------|--------------------------|------------------|------------------|--------------------------|------------------|------------------|
| | КОЕ | КОЕ | КОЕ | КОЕ | КОЕ | КОЕ |
| | Ванчинское месторождение | | | Люльинское месторождение | | |
| контроль | 450 | 59 | 9 | 363 | 52 | 3 |
| 10 мг (сразу) | 431 | 67 | 3 | 159 | 26 | 1 |
| 10 мг (через 30 минут) | 411 | 95 | 2 | 393 | 46 | 1 |
| 10 мг (через 1 час) | 329 | 48 | 2 | 338 | 66 | 6 |
| 10 мг (через 24 часа) | 57 | 3 | 1 | 602 | 215 | 104 |
| 20 мг (сразу) | 351 | 40 | 1 | 140 | 30 | 2 |
| 20 мг (через 30 минут) | 292 | 60 | 4 | 323 | 37 | 2 |
| 20 мг (через 1 час) | 474 | 61 | 2 | 151 | 31 | 4 |
| 20 мг (через 24 часа) | 269 | 83 | 4 | 368 | 58 | 15 |
| 50 мг (сразу) | 310 | 30 | 2 | 75 | 3 | 0 |
| 50 мг (через 30 минут) | 250 | 12 | 1 | 124 | 10 | 3 |
| 50 мг (через 1 час) | 253 | 33 | 1 | 151 | 23 | 1 |
| 50 мг (через 24 часа) | 271 | 51 | 3 | 310 | 42 | 11 |

Материалы и методы. Для определения микробиологической активности цеолитовых туфов Вангинского, Куликовского и Лютогского месторождений были взяты культуры условно-патогенных бактерий *E. coli* 25922, полученные из ГИСК им. Л.А. Тарасевича. Исследования проводились на базе лаборатории микробиологии ФГУЗ «Центр эпидемиологии и гигиены в Приморском крае», Владивосток. В работе использовались стандартные методики и культуральные среды: мясопептонный агар (МПА) и среда Эндо. После приготовления раствора (1 млрд. клеток) по стандарту мутности цеолиты инкубировались вместе с бактериями в течение 30 минут, 1 час, 24 часа. Затем согласно стандартным методикам сеяли суспензию на МПА и среду Эндо и помещали в термостат на 24 часа при температуре 37⁰С. Подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ) велся визуально. Цеолитовые породы применялись стерильные (обработка в автоклавном шкафу при температуре 180⁰С в течение 3 часов).

Цеолит измельчался с помощью дробилки ВКМД6 (Вибротехник), ультразвуковой гомогенизатор Vandelin Sonopulse 3400 и планетарной мельнице Fritch Pulverisette. В итоге размер частиц цеолитового туфа достигали размера от 100 нм до 2 мкм, но подавляющее число частиц было размером около 500 нм. Контроль размера частиц осуществлялся на лазерном анализаторе частиц Fritch Particle Sizer Analysette 22 и на сканирующем электронном микроскопе JEOL JSM-6490LV в Дальневосточном геологическом институте ДВО РАН (Чекрыжов И.Ю. и Сафронов П.П.). Образцы предварительно напылялись золотом. Концентрация цеолита в туфах всех трех месторождений составляла около 60-70%. В качестве сопутствующих минералов в туфе также определялись кварц, полевой шпат, вулканическое стекло и некоторые другие.

Результаты и обсуждение. Сводные результаты микробиологических исследований приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 2. Микробиологические свойства цеолитов. Среда МПА

| Группы / Разведение | 10 ⁻⁵ КОЕ | 10 ⁻⁶ КОЕ | 10 ⁻⁵ КОЕ | 10 ⁻⁶ КОЕ |
|------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|
| | Чугуевское месторождение | | Шивертуйское месторождение | |
| Контроль | 350 | 69 | 319 | 46 |
| 10 мг (сразу) | 90 | 7 | 1 | 0 |
| 10 мг (через 30 минут) | 129 | 20 | 6 | 4 |
| 10 мг (через 1 час) | 109 | 26 | 4 | 1 |
| 10 мг (через 24 часа) | 250 | 22 | 83 | 10 |
| 20 мг (сразу) | 83 | 19 | 58 | 10 |
| 20 мг (через 30 минут) | 235 | 52 | 21 | 17 |
| 20 мг (через 1 час) | 150 | 18 | 10 | 3 |
| 20 мг (через 24 часа) | 251 | 64 | 188 | 63 |
| 50 мг (сразу) | 136 | 16 | 55 | 7 |
| 50 мг (через 30 минут) | 86 | 9 | 33 | 17 |
| 50 мг (через 1 час) | 93 | 17 | 18 | 4 |
| 50 мг (через 24 часа) | 558 | 37 | 185 | 150 |

Обсуждение полученных результатов.

Антибактериальные свойства цеолитов можно попытаться объяснить наличием на поверхности кристаллической решетки цеолитов специфического электрического заряда [15]. Ранее нами и другими авторами [2, 5, 10, 12, 18] была показана антимикробная активность цеолитов некоторых месторождений. Исходя из полученный нами данных взаимоотношения между наночастицами цеолитов и бактериями носят порой неоднозначный характер. Самой высокой антимикробной активностью среди приведенных выше обладают наночастицы цеолитов Шивертуйского месторождения. Наночастицы цеолитов остальных месторождений такой активностью практически не обладают. Стоит отметить, что ранее нами, в частности, было показана антимикробная активность частиц цеолитов Ванчинского месторождения с более крупной фазой измельчения (5-10 мкм) [2]. Можно сделать предварительный вывод, о том, что антимикробная активность цеолитов зависит от величины частиц и меняющихся при этом физико-химических свойств цеолитов. Еще один факт, заслуживающий внимания, это постепенное восстановление количества КОЕ *E.coli* 25922 в случае применения наночастиц цеолитов Шивертуйского месторождения. В отношении других месторождений достоверных изменений, при разной длительности культивирования, отмечено не было. Скорее всего, это происходит из-за элиминации бактерий на поверхность цеолита, вследствие которой падают его антимикробные свойства. Несомненно, что

данный вопрос требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (программа У.М.Н.И.К.), гранта РФФИ 09-04-90781-моб_ст.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Богати́ков, О.А. Неорганические наночастицы в природе // Вестник РАН. – 2003. – Т.73, № 5. – С. 426.
2. Голохваст, К.С. Изучение потенциальных фармакологических свойств цеолитов // Клиническая фармакология и терапия. – 2009. – №6. – С. 265-266.
3. Глушкова, В.А. Нанотехнологии и нанотоксикология – взгляд на проблему / А.В. Глушкова, А.С. Радлов, В.Р. Рембовский // Токсикологический вестник. – 2007. – №6. – С. 4-8.
4. Дурнев, А.Д. Токсикология наночастиц // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т.145, №1. – С. 78-80.
5. Паничев, А.М. Литофагия в мире животных и человека / А.М. Паничев. – М.: Наука, 1990. – 224 с.
6. Трубецкой, К.Н. Техногенные минеральные наночастицы как проблема освоения недр / К.Н. Трубецкой, С.Д. Викторов, Ю.П. Галченко, В.Н. Одинцев // Вестник РАН. – 2006. – Т.76, №4. – С. 318-332.
7. Цыбенков, Ю.Ю. Функциональное состояние разных звеньев системы мононуклеарных фагоцитов в динамике SiO₂-индуцированного гранулематозного воспаления: Дисс... канд. мед. наук. Новосибирск, 2007. – 109 с.
8. Юшкин, Н.П. Минеральный мир и здоровье человека // Вестник отделения наук о Земле РАН, № 1(22)' 2004. - Тезисы доклада на общем собрании Отделения наук о Земле РАН 15.12.2003 г., г. М. URL: http://www.scgis.ru/russian/cp1251/h_dgggms/1-2004/scpub-1.pdf

9. *Adili, A.* Differential cytotoxicity exhibited by silica nanowires and nanoparticles / *A. Adili, S. Crowe, M.F. Beaux* et al. // *Nanotoxicology*. – 2008. – Vol. 2, №1. – P. 1-8.
10. *Concepción-Rosabal, B.* Bactericidal action of Cuban natural clinoptilolite containing clusters and nanoparticles of silver / *B. Concepción-Rosabal, N. Bogdanchikova, I. De la Rosa* et al. // *Book of abstracts 7th International Conference on the Occurrence, Properties, and Utilization of Natural Zeolites «Zeolite'06», 16-21 July 2006, Socorro, New Mexico, USA. – Socorro, 2006. – P. 88-90.*
11. *Diamond, J.M.* Evolutionary biology: Dirty eating for healthy living // *Nature*. – 1999. – Vol. 400. – P. 120-121.
12. *Galeano, B.* Inactivation of vegetative cells, but not spores, of *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, and *B. subtilis* on stainless steel surfaces coated with an antimicrobial silver- and zinc-containing zeolite formulation. / *B. Galeano, E. Korff, W.L. Nicholson* // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2003. – №69. – P. 4329-4231.
13. *Hoet, P.M.* Nanoparticles — known and unknown health risks / *P.M. Hoet, I. Bruske-Hohlfeld, O.V. Salata* // *Journal of Nanobiotechnology*. 2004. – №2. – P. 12.
14. *Kagan, V.E.* Nanomedicine and nanotoxicology: two sides of the same coin / *V.E. Kagan, H. Bayir, A.A. Shvedova* // *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*. – 2005. – №1. – P. 313-316.
15. *Kubota, M.* Selective adsorption of bacterial cells onto zeolites / *M. Kubota, T. Nakabayashi, Y. Matsumoto* et al. // *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*. – 2008. – №64. – P. 88-97.
16. *Lambert, J.E.* Primate digestion: interactions among anatomy, physiology, and feeding ecology // *Evol. Anthropol.* – 1998. – №7. – P. 8-20.
17. *Mahaney, W.C.* Soils consumed by chimpanzees of the Kanyawara community in the Kibale Forest, Uganda. / *W.C. Mahaney, M.W. Milner, S. Aufreiter* et al. // *Int. J. Primatol.* – 2005. – №26. – P. 1375-1398.
18. *Milan, Z.* The removal of bacteria by modified natural zeolites / *Z. Milan, C. de Las Pozas, M. Cruz* et al. // *J. Environ. Sci. Health*. – 2001. – Vol. 36, №6. – P. 1073-1087.
19. *Oberdorster, G.* Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles / *G. Oberdorster, E. Oberdorster, J. Oberdorster* // *Environmental Health Perspectives*. – 2005. – №7 (113). – P. 823-839.
20. *Sahoo, S.K.* The present and future of nanotechnology in human health care / *S.K. Sahoo, S. Parveen, J.J. Panda* // *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*. – 2007. – № 3. – P. 20-31.

TOXICOLOGICAL AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF MINERAL NANOPARTICLES

© 2009 K.S. Golokhvast^{1,5}, A.M. Panichev², A.N. Gulkov^{1,7}, P.A. Nikiforov³,
I.G. Fedotova⁴, A.A. Anisimova⁵, I.E. Pamirskiy⁶, E.G. Avtomonov⁷

¹ Institute of Gas and Oil Far East State Technical University

² Pacific Institute of Geography FEB RAS

³ Institute of Mechanics, Automation and Advanced Technologies
Far East State Technical University

⁴ Centre of Epidemiology and Hygiene in Primorsky region

⁵ Far East State University

⁶ Amur State Medical Academy

⁷ JSC DVNIPI-neftegas

The article discusses ecotoxicological aspects of the interaction of mineral nanoparticles and microorganisms. Showing antimicrobial properties of nanoparticles (about 500 nm) of zeolite deposits of the Far East and Siberia of Russia to culture microorganisms.

Key words: *nanoparticles, zeolite, antimicrobial action, nanotoxicology, ecotoxicology*

Kirill Golokhvasr, Candidate of Biology, Deputy Director. E-mail: droopy@mail.ru

Alexander Panichev, Doctor of Biology, Leading Research Fellow at the Laboratory of Ecology and Animals Protection

Alexander Gulkov, Doctor of Technical Sciences, Professor, Director Pavel Nikiforov, Candidate of Technical Sciences, Senior Lecturer at the Department of Metals Technology and Metallurgy

Irina Fedotova, Chief of the Microbiology Laboratory

Anna Anisimova, Candidate of Biology, Associate Professor at the Department of Cell Biology

Igor Pamirskiy, Assistant at the Department of Biological Chemistry with Course of Bioorganic Chemistry

Evgeniy Avtomonov, Trainee-researcher