



М. В. Савчук, М. Ф. Стародуб

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

ВИЗНАЧЕННЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ НОВОСИНТЕЗОВАНИХ НАНОКОМПОЗИТІВ НА ОСНОВІ САПОНІТІВ

Розглянуто питання цитотоксичності новосинтезованих Nb-вмісних наноконкомпозитів та наноматеріалу SiO₂, який входить до їхнього складу, оскільки дослідження новостворених наноматеріалів на цей час є дуже актуальним завданням. Методом просвічувальної електронної мікроскопії досліджено, що Nb(V)-вмісні наноконкомпозити складаються з маленьких пластинчастих частинок у нанометровому розмірі по ширині і довжині. Зразки наноконкомпозиту Nb-Saponite (Et) складаються з частинок розміром менше 100 нм і вони є меншими від наноконкомпозиту Nb-Saponite (Cl). Ця різниця в розмірах кристалів може бути пов'язана з іншою процедурою, прийнятою для підготовки твердих речовин. Мікрофотографії, отримані за вищих збільшень, показали решітку смуг базальних площин наноконкомпозитів, їх міжшаровий простір становив приблизно 1,3 нм. Встановлено, що новосинтезовані наноконкомпозити не проявляють токсичності, на відміну від їхнього складника – нанорозмірного матеріалу SiO₂. Результати досліджень щодо цитотоксичного ефекту на клітинах *A. cerea* L. показали, що нанорозмірний матеріал SiO₂ призводить до зменшення мітотичного індексу та порушень структури хромосом, тоді як наноконкомпозити не спричиняли токсичного ефекту. Встановлено, що за дії нанорозмірного матеріалу SiO₂ в діапазоні концентрацій 450-600 мг/л змінювалась тривалість фаз мітозу, відзначено зростання профазного блоку, тоді як анафазні і телофазні блоки зменшились. Показано, що цитотоксичність нанорозмірного матеріалу спричинено його розмірами, які зумовлюють значну хімічну активність і високу здатність до проникнення наночастинок у рослинний організм.

Ключові слова: наноматеріал; нанотехнологія; токсичність; клітини; мікроскопія.

Вступ. Нанотехнологія є молодого галуззю науки, яка стрімко ввійшла в наше життя і дуже інтенсивно розвивається. Зацікавленість наноматеріалами у сільському господарстві спричинена комплексом їх особливих властивостей (Yan, et al., 2012; Amelia, et al., 2012; Laurent, et al., 2008). На думку вчених, застосування наноматеріалів у рослинництві дасть змогу покращити посівні якості, біометричні показники, врожайність сільськогосподарських культур (Taran, et al., 2011). Розроблення нових видів нанопрепаратів є актуальним напрямком досліджень. Проте специфічні фізико-хімічні властивості наноматеріалів, порівняно із звичайними мікрочастинками, можуть нести несподівані ризики для екосистеми (Makarenko & Rudnitska, 2015). Отже, дослідження новостворених наноматеріалів на цей час є дуже актуальним завданням.

Мета дослідження – визначити цитотоксичність новосинтезованих наноконкомпозитів та нанорозмірного матеріалу SiO₂.

Матеріали та методи дослідження. У роботі досліджували цитотоксичність новосинтезованих Nb-вмісних наноконкомпозитів на основі сапонітів: Saponite (H); Nb-Saponite (Cl) і Nb-Saponite (Et) та їх складової частини – нанорозмірного матеріалу SiO₂. Новостворені наноматеріали було надано в рамках НАТО проекту № NUKR.SFP 984481 науково-дослідним інститутом молекулярних технологій м. Мілану, Італія.

Для проведення просвічувальної електронної мікроскопії з високою роздільною здатністю (HR-TEM)

зразки наноконкомпозитів масою 0,1 г поміщали у пробірки із притертим шліфом, в яких містилося по 10 см³ 96 %-го етилового спирту. Пробірки закривали скляними кришками й інтенсивно перемішували їх вміст. Після цього пробірки вносили в УЗ-диспергатор АОУЕ 9050, емність якого попередньо наповнювали дистильованою водою. Здійснювали 3 цикли УЗ-оброблення на частоті 22 кГц упродовж 90 с. Потім отриману суспензію по одній краплині наносили на сітчасті підкладки у формі кола. За допомогою лампи розжарювання висушували підготовлені зразки. Після цього їх поміщали на тримач і вводили в камеру електронного мікроскопа JEOL 3010 (напруга 300 кВ) (Fedenko, 2014). Для вивчення цитотоксичності наноконкомпозитів на рівні клітини використовували загальноприйнятту методику *Allium-mecm* (Makarenko & Bondar, 2015; Prokhorova, Komarova & Fomycheva, 2003).

Результати дослідження. Просвічувальна електронна мікроскопія дає змогу отримувати зображення новоствореного матеріалу з високим роздільним, до 0,08 нм, таким чином цей метод є дуже важливим для вивчення детальнішої структури і розмірів новосинтезованих матеріалів.

HR-TEM мікрофотографії показують (рис. 1), що Nb(V)-вмісні наноконкомпозити складаються з маленьких пластинчастих частинок у нанометровому розмірі по ширині і довжині. Зразки Nb-SAP(Et) складаються з окремих частинок розміром до 100 нм, вони є менші за розмірами, ніж Nb-SAP(Cl) зразки. Ця різниця в розмірі

Цитування за ДСТУ: Савчук М. В., Стародуб М. Ф. Визначення цитотоксичності новосинтезованих наноконкомпозитів на основі сапонітів. Науковий вісник НЛТУ України. 2017. Вип. 27(4). С. 137–139.

Citation APA: Savchuk, M. V., & Starodub, M. F. (2017). Determination of the Cytotoxicity of New Nanocomposites Based on Saponite. Scientific Bulletin of UNFU, 27(4), 137–139. <https://doi.org/10.15421/40270430>

кристала може бути пов'язана з різною процедурою, прийнятою для підготовки твердих речовин (Makarenko & Bondar, 2015; Prokhorova, Komarova & Fomycheva, 2003).

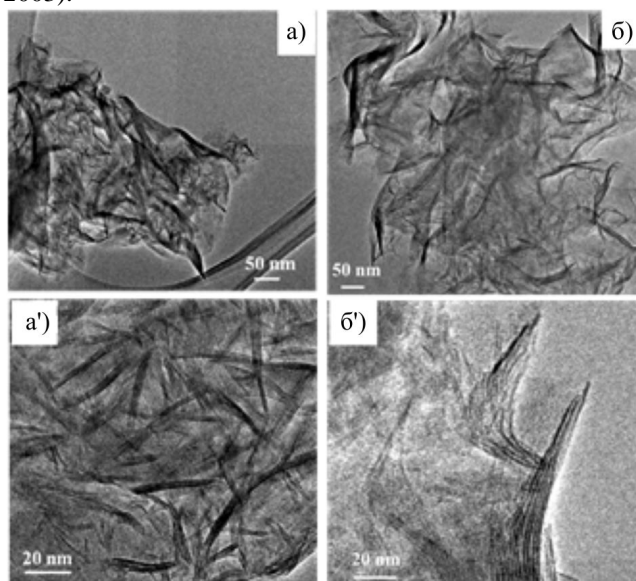


Рис. 1. HR-ТЕМ мікрофотографії за низьких (а, б) та високих (а', б') збільшеннях. Наноккомпозити Nb-SAP(Et) (а та а'), Nb-SAP(Cl) (б та б') відповідно

Мікрофотографії, отримані за вищих збільшень (див. рис. 1; а', б') показали решітку смуг базальних площин наноккомпозитів, їх міжшаровий простір становив приблизно 1,3 нм. Дослідивши морфологічні властивості наноккомпозитів, вивчали цитотоксичність наноматеріалів на клітинах *A. cerea* L. Цитотоксичний ефект наноматеріалів оцінювали за змінами мітотичного індексу, який вираховували у відсотках. Результати досліджень цитотоксичного ефекту на клітинах *A. cerea* L. свідчать про безпечність використання наноккомпозитів на основі сапонітів, оскільки зміна мітотичного індексу відносно контролю не відбувалася. На відміну від наноккомпозитів, застосування нанорозмірного SiO₂ спричинило зменшення мітотичної активності клітин *A. cerea* (рис. 2).

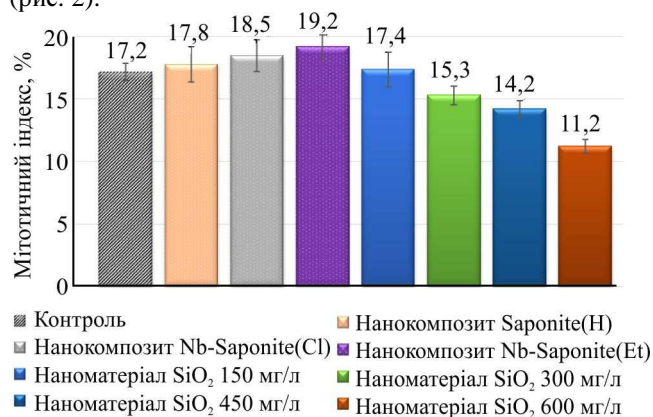


Рис. 2. Вплив наноматеріалів на значення мітотичного індексу залежно від концентрацій (n=4)

Як видно з рис. 2, значення мітотичного індексу за експозиції у концентрації 600 мг/л наноккомпозитів на основі сапонітів, мітотичний індекс достовірно не відрізнявся від контрольних показників. Однак нанорозмірний матеріал SiO₂ спричиняв зменшення показників мітотичних індексів клітин тест-об'єкта, застосовуючи наноматеріал в концентрації 600 мг/л цей показник зменшився на 34,88 % порівняно зі значенням контро-

лю. Отже, новостворені наноккомпозити на основі сапонітів не пригнічують ділення клітин *A. cerea*, на відміну від нанорозмірного матеріалу SiO₂. За результатами експериментальних досліджень встановлено, що за дії нанорозмірного матеріалу SiO₂ в діапазоні концентрацій 450-600 мг/л змінювалась тривалість фаз мітозу (рис. 3).

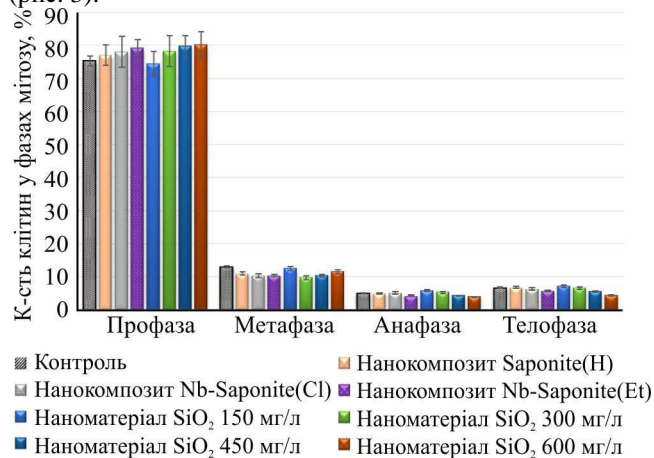


Рис. 3. Вплив наноматеріалів на відносну тривалість фаз мітозу клітин *A. cerea* L. (n=4)

Згідно з даними рис. 3, за дії наноматеріалу SiO₂ в концентрації 600 мг/л відзначено зростання профазного блоку на 6,5 % порівняно з контролем, тоді як анафазні і телофазні блоки зменшились на 22,2 та 35,31 % відповідно. Такі дані свідчать про порушення перебігу мітозу в клітинах *A. cerea*.

Попередньо представлені припущення щодо цитотоксичності наноматеріалу в концентрації 600 мг/л підтвердились під час аналізу. За дії наноматеріалу спостерігалось утворення великої кількості клітин з ядерними та хромосомними порушеннями (рис. 4). Цитотоксичність наноматеріалу SiO₂ можна пояснити прямим впливом НЧ на клітинні структури.

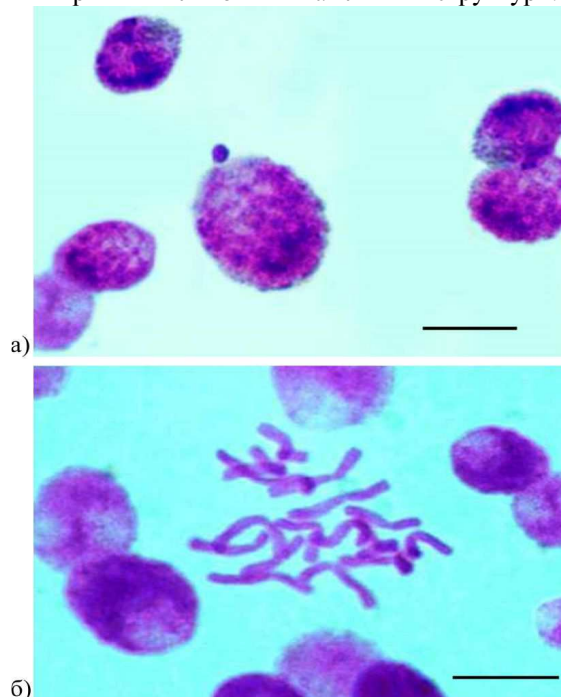


Рис. 4. Клітинні аномалії за дії нанорозмірного SiO₂ в концентрації 300 мг/л: а) утворення мікроядер внаслідок порушення процесу розходження хромосом у мітозі, б) К-мітозу у клітинах апікальної меристеми *Allium cerea* (лінійка – 10 мкм, реакція Фольгена на ДНК)

Висновки. Результати дослідження цитотоксичного ефекту на клітинах *Allium cepa* L. показали, що використання наноконкомпозитів на основі сапонітів не спричинило зміни мітотичних індексів, порушень структури хромосом. Встановлено, що нанорозмірний матеріал SiO₂, який входить до складу наноконкомпозитів, характеризується високим рівнем цитотоксичності, він здатний змінювати тривалість окремих фаз мітозу та порушувати нормальний поділ клітин. Токсичність нанорозмірного матеріалу SiO₂ пояснюють його нанометровими розмірами (20 нм), він, на відміну від наноконкомпозитів здатний проникати до рослинного організму, накопичуватися і проявляти токсичний ефект.

Перелік використаних джерел

Amelia, M. et al. (2012). Electrochemical properties of CdSe and CdTe quantum dots. *Chem. Soc. Rev.*, 41, 5728–5743.
Fedenko, Yu. M. (2014). Nanokompozyty na osnovi tsyrkoniiu (IV) oksydu ta yikh vykorystannia dlia ochyshchennia vody. *Candidate dissertation for technical sciences* (05.17.21 – Tekhnolohiia vodo-ochyshchennia). Kyiv, 175 p. [in Ukrainian].

Laurent, S. et al. (2008). Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chem. Rev.*, 108, 2064–2110.
Makarenko, N. A. (Ed.), & Bondar, V. I. (2015). Biotestuvannia nanopreparativ z vrakhuvanniam osoblyvostei yikh vplyvu na netsilovi ob'ekty pryrodnykh ekosystem: naukovo-metodychni rekomendatsii. Kyiv: NUBiP Ukrainy, 26 p. [in Ukrainian].
Makarenko, N. A., & Rudnitska, L. V. (2015). Ekotoksykologichna otsinka nanoahrokhimikativ za vplyvom na biotu gruntovoi ta vodnoi ekosystem. *Tavriiskyi naukovyi visnyk*, 94, 133–138 p. [in Ukrainian].
Prokhorova, M. Yu., Komarova, M. Yu., & Fomycheva, A. N. (2003). *Otsenka mytotoksycheskoho y mutahennoho deistviya faktorov ok-ruzhaiushchei sredi: Metodycheskye ukazaniya*. Yaroslavl: Yarosl. hos. un-t., 32 p. [in Ukrainian].
Taran, N. Yu. et al. (2011). Vplyv neionnoho koloidnoho rozchynu nanochastok bioghennykh metaliv na vmist elementiv metaliv u roslynnykh tkanyakh. *Fizyka zhyvoho*, 19(2), 9–11 p. [in Ukrainian].
Yan, L. et al. (2012). Chemistry and physics of a single atomic layer: Strategies and challenges for functionalization of graphene and graphene-based materials. *Chem. Soc. Rev.*, 41, 97–114.

М. В. Савчук, М. Ф. Стародуб

Національний університет біоресурсів і природопольовання України, г. Київ, Україна

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ НОВОСИНТЕЗИРОВАННЫХ НАНОКОМПЗИТОВ НА ОСНОВЕ САПОНИТОВ

Рассмотрены вопросы цитотоксичности новосинтезированных Nb-содержащих наноконкомпозитов и наноматериала SiO₂, который входит в их состав, поскольку исследования наноматериалов в настоящее время является очень актуальной задачей. Методом просвечивающей электронной микроскопии исследовано, что Nb(V) содержащие наноконкомпозиты состоят из маленьких пластинчатых частиц в нанометровом размере по ширине и длине. Образцы наноконкомпозита Nb-Saponite (Et) состоят из частиц с размерами менее 100 нм и они являются меньше наноконкомпозита Nb-Saponite (Cl). Эта разница в размерах кристаллов может быть связана с другой процедурой, принятой для подготовки твердых веществ. Микрофотографии, полученные при более высоких увеличениях, показали решетку полос базальных плоскостей наноконкомпозитов, их межслойное пространство составляло примерно 1,3 нм. Установлено, что новосинтезированные наноконкомпозиты не проявляют токсичности, в отличие от их составляющей – наноразмерного материала SiO₂. Результаты исследований цитотоксического эффекта на клетках *A. cepa* L. показали, что наноразмерный материал SiO₂ приводит к уменьшению митотического индекса и нарушению структуры хромосом, тогда как наноконкомпозиты не совершали токсического эффекта. Установлено, что при действии наноразмерного материала SiO₂ в диапазоне концентраций 450–600 мг/л менялась продолжительность фаз митоза, отмечен рост профазного блока, тогда как анафазный и телофазный блоки уменьшились. Показано, что цитотоксичность наноразмерного материала вызвана его размерами, которые обуславливают значительную химическую активность и высокую способность к проникновению наночастиц в растительный организм.

Ключевые слова: наноматериал; нанотехнология; токсичность; клетки; микроскопия.

М. V. Savchuk, M. F. Starodub

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

DETERMINATION OF THE CYTOTOXICITY OF NEW NANOCOMPOSITES BASED ON SAPONITE

Development of new nanomaterials is a relevant area of research. However, the specific physical and chemical properties of nanomaterials compared to conventional microparticles can carry unexpected risks to the ecosystem. Therefore, the newly created research of nanomaterials currently is a very urgent task. The article deals with the cytotoxicity of new Nb-containing nanocomposites and nanomaterials SiO₂, which is included in their composition. HR-TEM micrographs show that all Nb (V) containing nanocomposites consist of relatively small, sheet-like particles at nanometer scale. Nanocomposites Nb-Saponite (Et) samples are composed of particles with size is below 100 nm, smaller than the Nb-Saponite (Cl) sample. This difference in a crystal size could be related to different procedure adopted to prepare the solids. Photomicrographs obtained at higher magnification showed basal plane lattice strips of nanocomposites, their interlayer space was about 1.3 nm. The study has found that new nanocomposites show no toxicity, unlike their part – nanosized materials SiO₂. The results of studies on the cytotoxic effect on cells of *A. cepa* L. have shown that nanosized materials SiO₂ leads to a decrease in mitotic index and chromosomal disorders structures, while not causing nanocomposites toxic effect. The research has also revealed that the action of nanosized materials SiO₂ concentrations in the range of 450–600 mg/l changed the duration of mitosis phase, growth of prophase unit was observed while ana-phase and telophase units decreased. Thus, we should conclude that the cytotoxicity of nanosized materials due to their size, which cause significant chemical activity and high capacity for penetration of nanoparticles into plant organisms.

Keywords: nanomaterials; nanotechnology; toxicity; cells; microscopy.

Інформація про авторів:

Савчук Марина Вікторівна, мол. наук. співробітник, Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна. **Email:** taranmaruna@gmail.com

Стародуб Микола Федорович, д-р біол. наук, професор, Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна. **Email:** nikstarodub@yahoo.com