

УДК 577.17

DOI: 10.33284/2658-3135-102-4-10

Сравнительная характеристика токсичности ультрадисперсных частиц меди, цинка и их сплавов в тесте ингибирования бактериальной биолюминесценции

Е.А. Сизова^{1,2}, Е.В. Яушева¹, К.С. Нечитайло¹, А.П. Иванищева¹

¹Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук (г. Оренбург)

²Оренбургский государственный университет (г. Оренбург)

Аннотация. Интенсивно развивающиеся нанотехнологии, связанные с открытием уникальных свойств ультрадисперсных частиц, показали высокий потенциал их широкого применения. Однако отсутствие детальной оценки биологической безопасности параллельно с доказанной возможностью их использования подводит к необходимости решения этих задач. К тому же биологический отклик сплавов двух частиц будет отличаться от такового при тестировании отдельных частиц. В связи с этим целью явилось сравнительное исследование токсичности ультрадисперсных частиц меди, цинка, а также их сплава и смеси в тесте ингибирования бактериального свечения с использованием *Echerichia coli*, рекомендуемыми для медико-биологической оценки наноматериалов действующим национальным нормативом (МР 1.2.2566-09, МУ 1.2.2634-10).

В статье изучена интенсивность свечения рекомбинантного штамма *Echerichia coli* природного морского микроорганизма *Photobacterium leiognathi* с клонированными *luxCDABE*-генами при воздействии концентраций ($0,1-6 \times 10^{-6}$ М), достигнутых ступенчатым разведением ультрадисперсных частиц цинка, меди, их сплава и смеси. Установлено, что характеризуемый величинами EC_{50} уровень токсической активности прогрессивно убывал в ряду: Zn → CuZn (сплав) → CuZn (смесь) → Cu, с максимальной выраженностью эффекта токсичности у цинка. Сплав и смесь CuZn занимают среднее положение в ряду токсичности вследствие нивелирования токсичного эффекта цинка медью.

Ключевые слова: ультрадисперсные частицы, бактериальные клетки, биолюминесценция, цинк, медь, ингибирование.

UDC 577.17

Comparative characteristics of toxicity of ultrafine particles of copper, zinc and their alloys in the test of inhibition of bacterial bioluminescence

Elena A Sizova^{1,2}, Elena V Yausheva¹, Ksenia S Nechitaylo¹, Anastasia P Ivanishcheva¹

¹Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences (Orenburg, Russia)

²Orenburg State University (Orenburg, Russia)

Summary. Intensively developing nanotechnologies associated with the discovery of unique properties of ultrafine particles have shown a high potential for their widespread use. However, the lack of a detailed assessment of biological safety in parallel with the proven possibility of their use leads to the need to solve these problems. In addition, the biological response of alloys of two particles will differ from that when testing individual particles. In this regard, the purpose was a comparative study of the toxicity of ultrafine particles of copper, zinc, as well as their alloy and mixture in the test of inhibition of bacterial luminescence using *Echerichia coli* recommended by the current national standard for medical and biological evaluation of nanomaterials (MR 1.2.2566-09, MU 1.2.2634-10).

The luminescence intensity of the recombinant strain *Echerichia coli* of natural marine microorganism *Photobacterium leiognathi* with cloned *luxCDABE* genes under the influence of concentrations ($0.1-6 \times 10^{-6}$ M) achieved by stepwise dilution of ultrafine particles of zinc, copper, their alloy and mixture was studied. It was established that the level of toxic activity characterized by EC_{50} values progressively decreased in the series: Zn → CuZn (alloy) → CuZn (mixture) → Cu, with maximum toxicity effect in zinc. The alloy and CuZn mixture occupy a middle position in the toxicity series due to the leveling of toxic effect of zinc by copper.

Key words: ultrafine particles, bacterial cells, bioluminescence, zinc, copper, inhibition.

Введение.

Интенсивно развивающиеся нанотехнологии, связанные с открытием уникальных свойств наночастиц, показали высокий потенциал их широкого применения в медицине, биологии и других сферах (Ding L et al., 2015; Ajdary M et al., 2015; Adeveni OS, 2015). Несмотря на это, тормозящими факторами применения являются отсутствие сведений об их биобезопасности и наличие вероятности токсических эффектов (Gong M et al., 2015; Lu S et al., 2015), а также изменчивость биологического ответа в зависимости от физико-химических характеристик частиц одного и того же элемента (Sondi I, 2004; Сизова Е.А., 2017б).

В настоящее время имеется ряд работ, посвящённых анализу токсических эффектов металлов в наноформе (Yang H et al., 2009; Ksiazzyk M, 2015; AlGurabi MA et al., 2015; Shen MH et al., 2015; Лебедев С.В. и др., 2017; Короткова А.М. и др., 2017; Яушева Е.В. и др., 2017). Хотя безопасность некоторых наноматериалов уже была оценена (Zhao Y and Nalwa HS, 2006; Сизова Е.А. и др., 2011; Lopes I et al., 2012; Petersen EJ and Henry TB, 2011; Visnapuu M et al., 2013; Du J et al., 2013; Сизова Е.А. и др., 2016), сведения о токсичности, включающие оценку влияния размера, фазового состава, дозы и временного промежутка проявления эффектов, для различных ультрадисперсных частиц не достаточны. К тому же биологический отклик сплавов двух частиц будет отличаться от такового при тестировании отдельных частиц. Отсутствие детальной оценки биологической безопасности параллельно с доказанной возможностью их использования (Сизова Е.А. и Яушева Е.В., 2019; Сизова Е.А., 2017а; Мирошников С.А. и Сизова Е.А., 2017) подводит к необходимости решения этих задач. Универсальным инструментом в достижении поставленных целей могут быть методы биолюминесцентного анализа с использованием люминесцирующих микроорганизмов (Дерябин Д.Г., 2009), оптимальным образом совмещающих в себе различные типы чувствительных клеточных структур с экспрессностью, объективностью и количественным характером регистрируемого отклика на оцениваемое воздействие (Mortimer M et al., 2008; Дерябин Д.Г. и др., 2010, Дерябин Д.Г. и др., 2011).

Цель исследования.

Сравнительное исследование токсичности ультрадисперсных частиц меди, цинка, их сплава и смеси в тесте ингибирования бактериального свечения с использованием *Echerichia coli*, рекомендуемыми для медико-биологической оценки наноматериалов действующим национальным нормативом (МР 1.2.2566-09, МУ 1.2.2634-10)

Материалы и методы исследования.

Объект исследования. Генно-инженерный люминесцирующий штамм *Echerichia coli* K12 TG1, конститутивно экспрессирующий *luxCDABE*-гены природного морского микроорганизма *Photobacterium leiognathi* 54D10 (НВО «Иммунотех», г. Москва, Россия) в лиофилизированном состоянии под коммерческим названием «Эколюм».

Схема эксперимента. Анализ ингибирования свечения бактерий проводили путём введения в ячейки 96-луночных планшетов из непрозрачного пластика исследуемого вещества и суспензии люминесцирующих бактерий в соотношении 1:1, после чего планшет помещали в измерительный блок анализатора. Результаты влияния наноматериалов на интенсивность бактериальной биолюминесценции (I) оценивали с использованием формулы

$$I = \frac{I_{k0\text{мин}} \times I_{o\text{пмин}}}{I_{k\text{пмин}} \times I_{o0\text{мин}}}$$

где I_k и I_o – интенсивность свечения контрольных и опытных проб на 0-й и n-й минутах измерения. Учитывали 3 пороговых уровня токсичности:

меньше 20 – образец «не токсичен» (тушение люминесценции $\leq 20\%$);

от 20 до 50 – образец относительно токсичен (тушение люминесценции 50 %);

равно или больше 50 – образец токсичен (тушение люминесценции $\geq 50\%$).

Отбор образцов ультрадисперсных частиц. Пробы суспензий наночастиц для эксперимента готовили в диапазоне концентраций 0,1 М-0,000006 М и подвергали обработке ультразвуком в течение 30 мин. В исследованиях использовали образцы ультрадисперсных частиц металлов, синтезированных в Институте физики металлов им. М.Н. Михеева Уральского отделения Российской академии наук (табл. 1) левитационно-струйным методом.

Таблица 1. Параметры ультрадисперсных частиц
Table 1. Parameters of ultrafine particles

Образцы/ Samples	Удельная поверхность, м ² /г/Specific surface, m ² /g	Гидродинамический радиус, нм / Hydrodynamic radius, nm	ζ-потенциал, мВ/ ζ potential, mV
CuZn(сплав)/ CuZn (alloy)	22	125±75	15,6±0,4
CuZn (смесь)/ CuZn (mixture)	8,7	172,5±95	28±0,2
Cu	12	127±24,3	31±0,1
Zn	5,3	164±31,2	25±0,5

Анализ люминесценции проводился на микропланшетном анализаторе Infinite PROF200, динамически регистрирующим интенсивность свечения полученных смесей в течение 180 мин с интервалом 5 мин. Удельная поверхность измерялась по сорбции азота четырёхточечным методом BET с помощью прибора СОРБИ-М Sorbi-M. Перед измерениями образцы сушились в потоке гелия при температуре +200 °С с использованием станции подготовки СОРБИ-Преп (Sorbi Prep). Погрешность измерения согласно информации изготовителя не должна превышать 6 %. Пятикратные измерения порошка одного и того же типа дали разброс значений удельной поверхности в указанном интервале.

Оборудование и технические средства. Микропланшетный анализатор Infinite PROF200 (TECAN, Австрия), прибор СОРБИ-М Sorbi-M (МЕТА, Россия), станция подготовки СОРБИ-Преп (Sorbi Prep) (МЕТА, Россия).

Статистическая обработка. Все эксперименты выполнены не менее чем в трёх повторностях и обработаны методами вариационной статистики с использованием пакета компьютерных программ «Statistika V8» («Stat Soft Inc.», США).

Результаты исследования.

Полученные результаты позволили описать зависимость ингибирования бактериального свечения от времени, а также от природы изучаемого материала, его формы и прочности.

Так, контакт *E. Coli* с возрастающими концентрациями ультрадисперсных частиц Cu в диапазоне 0,1 и 0,05 М ($P \leq 0,05$) приводит к полному подавлению свечения тест-объекта через 70 и 110 мин контакта относительно контрольных значений, в концентрации 0,0125 М практически полностью подавляется свечение через 150 мин контакта. Суспензии ультрадисперсных частиц Cu в концентрации 0,00625 М вызвали 50-70 % подавление биолюминесценции, тогда как разведения в дозе 0,003125 М ($P \leq 0,05$) и 0,001563 М ($P \leq 0,05$) вызвали относительное ингибирование от 20 до 40 %, являясь практически не токсичными. Дальнейшее разведение от 0,000781 до 0,000195 М не оказывало значимого влияния на бактериальную биолюминесценцию в сравнении с контролем.

Сплав ультрадисперсных частиц CuZn демонстрировал полное ингибирование свечения для концентраций в диапазоне 0,1...0,003125 М в первые 10-60 мин контакта и 0,00156-0,000781 М ($P \leq 0,05$) – через 110-150 мин контакта по сравнению с контролем. Увеличение разведений суспензий частиц сплава CuZn от 0,000391 до 0,00009 М ($P \leq 0,05$) приводило к 50-80 % тушением свечения бактерий, проявляя токсические свойства через 130-160 мин контакта. Биологическая активность сплава CuZn без токсического действия отмечалась при концентрации 0,00004 М на протяжении всего времени измерения.

В отличие от сплава CuZn смесь CuZn, приготовленная в той же пропорции элементов, в некоторых дозах являлась существенно токсичнее и характеризовалась способностью приводить к полному подавлению свечения бактерий в короткие сроки (10-25 мин) при значительно более низких концентрациях от 0,1 до 0,000391 М ($P \leq 0,05$) по сравнению с контролем. В случае концентрации 0,000195 М отмечалось 50-70 % ингибирование бактериальной люминесценции и проявление

среднего уровня токсичности. Однако последующие разведения смеси ультрадисперсных частиц CuZn от 0,00009 до 0,00004 М не вызвали значимых изменений биолюминесценции по сравнению с контрольными значениями и являлись не токсичными.

Исследование ультрадисперсных частиц цинка показало, что диапазон концентраций 0,1...0,000195 М ($P \leq 0,05$) приводит к полному подавлению свечения бактерий по сравнению с контрольной пробой. Оценка результатов выявила необходимость приготовления дополнительных разведений от 0,000195 до 0,000006 М. Из анализа результатов контакта ультрадисперсных частиц цинка с *E. coli* K12 TG1 с клонированными *luxCDABE*-генами *P. leiognathi* 54D10 следует, что концентрации в диапазоне 0,00009-0,00004 М вызывают 50-70 % подавление свечения через 70 мин контакта по сравнению с контролем и характеризуются как токсичные. Разведения суспензий частиц 0,00002 и 0,00001 М ($P \leq 0,05$) вызывают 20-50 % тушение свечения и являются относительно или малотоксичными, последующие разведения являются не токсичными.

Представленные результаты послужили основой для отображения зависимостей «доза-ответ» (рис. 1) для каждого из исследуемых вариантов ультрадисперсных частиц, а также расчётов величин EC_{50} , соответствующих молярным концентрациям, вызывающим 50 %-ное ингибирование бактериальной биолюминесценции по сравнению с контролем при различной продолжительности воздействия (табл. 2).

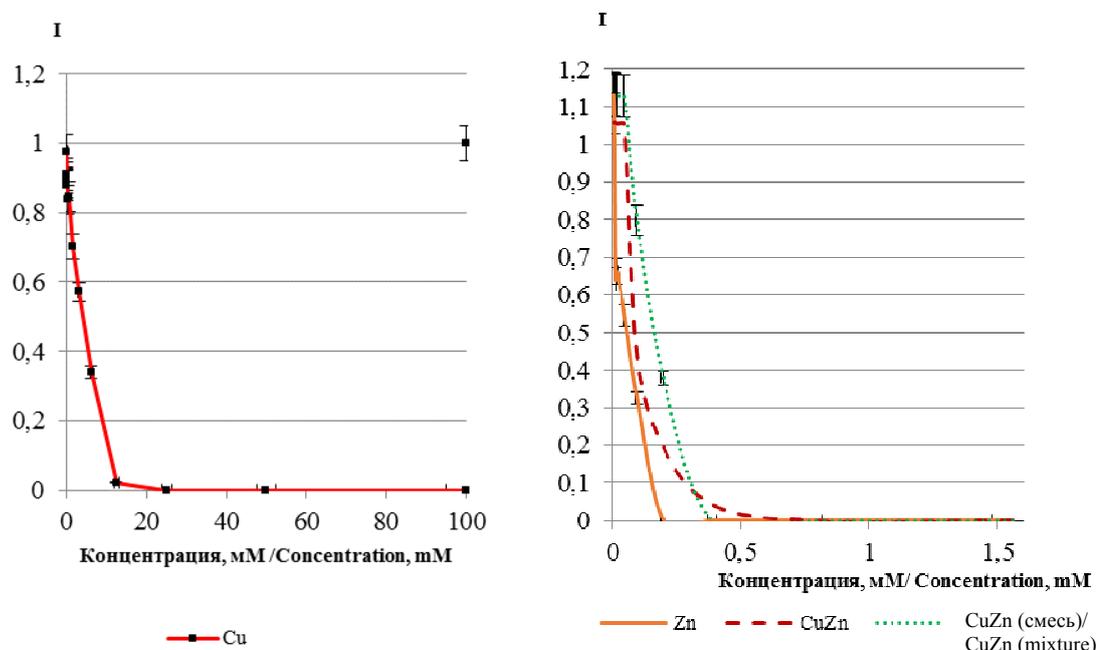


Рис. 1 – Относительные величины интенсивности свечения люминисцирующего штамма *E. coli* при контакте с ультрадисперсными частицами. По оси ординат – относительные значения интенсивности свечения по сравнению с контролем

Fig. 1 – Relative values of *E. coli* strain luminescence intensity in contact with ultrafine particles. On the ordinate axis-the relative values of luminescence intensity compared to the control

В частности, анализ полученных значений и расчёт EC_{50} позволяют сделать вывод, что ультрадисперсные частицы меди менее токсичны, чем частицы цинка. Для появления 50 % подавления биосвечения для меди требуется количество, в семьдесят пять раз превышающее количество цинка.

В соответствие с итогами расчёта EC_{50} при контакте со смесью частиц CuZn минимальная концентрация, вызывающая 50 % подавление люминесценции бактерий, определилась через 60 мин и составила 0,0002 М, что в 2,2 раза больше по отношению к сплаву. При продлении контакта до

180 мин показатели EC_{50} совпадают. Особенностью биологической активности сплава CuZn явилось формирование значений EC_{50} уже к 60 мин контакта – $0,00009 \pm 0,00002$ М, не изменяющимся при дальнейшем увеличении продолжительности контакта, что характеризует их активность как менее токсичную по сравнению со смесью CuZn.

Таблица 2. Значения токсикологического параметра EC_{50} (М) при контакте тест-организма *E. coli* K12 TG1 с клонированными luxCDABE-генами *P. leiognathi* 54D10 с ультрадисперсными частицами меди, цинка их сплавом и смесью
Table 2. The toxicological parameter values EC_{50} (M) contacting test organism *E. coli* K12 TG1 with cloned luxCDABE genes *P. leiognathi* 54D10 ultrafine particles of copper, zinc and their alloy mixture

УДЧ/ Ultrafine particles	Гидродина- мический радиус, нм/ Hydrody- namic radius, nm	Продолжительность контакта, мин/ Contact Duration, min		
		60	120	180
CuZn(сплав)/ CuZn (alloy)	125±75	0,00009±0,000002	0,00009±0,000005	0,00009±0,000001
CuZn (смесь)/ CuZn (mixture)	172,5±95	0,0002±0,00004	0,0002±0,00004	0,00009±0,000002
Cu	127±24,3	0,003±0,0004	0,003±0,0002	0,003±0,0001
Zn	164±31,2	0,00004±0,000003	0,00004±0,000001	0,00004±0,000001

Анализ EC_{50} показал, что для проявления биологической активности частиц цинка минимально необходима доза в количестве $0,00004$ М для получения 50 % тушения свечения биолюминесценции на всех этапах контакта. Проведение подобных вычислений позволило утверждать, что характеризуемый величинами EC_{50} уровень токсичности исследуемых образцов частиц в отношении генно-инженерного люминесцирующего штамма *E. coli* прогрессивно убывал в ряду: Zn → CuZn (сплав) → CuZn (смесь) → Cu.

Обсуждение полученных результатов

Основными параметрами, определяющими токсичность наночастиц, являются фазовый состав, размер и форма (Богословская О.А., 2009; Miroshnikov S et al., 2019). Однако размер частиц как фактор, определяющий токсичность, целесообразно использовать при сравнении разноразмерных частиц одного и того же элемента. Так, сравнивая два разноразмерных образца, было установлено, что более токсичными в одних и тех же концентрациях являются частицы с меньшим размером (Yu SS et al., 2012; Hamrahi-michak M et al., 2012; Yang L et al., 2015; Сизова Е.А., 2017). По мере уменьшения размера частиц отмечалось возрастание их биологической активности. Подобные изменения объясняются различиями в свойствах отдельных частиц и их кластеров, степенью корреляции геометрической структуры и структурной электронной оболочки при взаимодействии с биологическим объектом (Christy L et al., 2001).

Ультрадисперсные частицы меди вызвали 100 % подавление люминесценции в серии разведений до концентраций $0,0125$ М, 50 и 20 % – при концентрации $0,003$ и $0,002$ М. Концентрации, оказывающие незначительное влияние на люминесценцию бактерий, являлись биологически инертными и начинались с $0,00078$ М и ниже. В исследовании токсичности наночастиц меди в отношении млекопитающих (Chen Z et al., 2006) было обнаружено, что она во много раз превышает значение для микроорганизмов, что подтверждает их потенциал для использования у животных.

Возможные механизмы токсичности наночастиц в отношении *E. coli* связаны с увеличением плотности зарядов электронов на наружной мембране кишечной палочки при контакте с нано-

частицами меди, что сопоставимо с ингибирующей способностью тормозить рост бактерий и низкой энергией активации переноса электрона в сайте контакта. Анализ этих данных позволяет скорректировать условия получения образцов частиц с соответствующими свойствами плёнок оксида металла.

В свою очередь, образование электростатического контакта положительно заряженных агломератов наночастиц меди с отрицательно заряженной поверхностью *E. coli* показало развитие окислительного стресса модельных микроорганизмов, конечным результатом чего явилось повреждение ДНК (Дерябин Д.Г. и др., 2013).

На этом фоне наночастицы цинка также обуславливали ингибирование биолуминисценции. Однако для развития подобного эффекта по сравнению с медью требовались концентрации в десятки раз ниже. В диапазоне концентраций проявление наибольшей токсичности в отношении *Echerichia coli* K12 TG1 было отмечено для концентраций до 2×10^{-5} М, способных вызывать полное подавление свечения микроорганизмов даже в микродозах. Согласно литературе, присутствие кислородных форм на поверхности наночастиц является одним из основных факторов биотоксичности (Risom L et al., 2005; Wang J et al., 2013; Ko KS and Kong IC, 2014).

Основной токсический эффект наночастиц цинка или оксида цинка связан с их растворимостью и переходом ионов цинка Zn^{2+} в раствор (Sirelkhatim A et al., 2015). Большая токсичность наблюдается в образцах с высоким содержанием металлического цинка, что может быть связано с хорошей растворимостью. При взаимодействии с водой металлический цинк превращается в гидроксид цинка (Reichle RA et al., 1975), предел растворимости которого составляет примерно 100 мг/л (Ayres DM et al., 1994), тогда как для оксида цинка он составляет 6 мг/л (Reed RB et al., 2012). Механизм вредоносного действия связан с увеличением внутриклеточных Zn^{2+} в концентрации, приводящей к чрезмерной генерации внутриклеточных АФК, дисфункции митохондрий и гибели клеток. В дополнение к повышенной продукции АФК, повреждению лизосомальных мембран и активации каспазы-3 и каспазы-7, приводящих в итоге к апоптозу (Wang B et al., 2014).

Высокодисперсные частицы цинка (фазовый состав: 97 % металлический цинк) в разы токсичнее наночастиц меди (фазовый состав: 99,7 % кристаллическая медь), и практически в два раза токсичнее сплава цинк-медь (фазовый состав: 60 % кристаллическая медь, 40 % кристаллический цинк) (Sizova E et al., 2015).

Совместное использование наночастиц меди и цинка приводит к потенцированию токсического результата наночастиц меди. В среде с присутствием наночастиц цинка и меди EC_{50} возрастает от 15 раз (при сравнении Cu, CuZn смесь, сплав) до 66 раз на всех этапах контакта, т. е. токсичность характеризуется пролонгированным проявлением. Аналогичные результаты получены при оценке влияния наночастиц оксида меди и цинка на другие тест-объекты. Так, внесение в среду наночастиц оксида цинка в клеточной линии HepG2 модулирует цитотоксичность медных наночастиц. Накапливание значительного количества наночастиц цинка в клетках меняет клеточные мембраны и цитотоксичность наночастиц меди увеличивается (Li L et al., 2014). Сплав и смесь металлов-антагонистов Zn и Cu проявляют меньшую токсичность по сравнению с индивидуальным тестированием Zn.

В наших исследованиях фактором, определяющим токсичность частиц, является фазовый состав.

Выводы.

Степень токсичности линейки исследуемых образцов ультрадисперсных частиц, характеризуемая величинами EC_{50} , в отношении генно-инженерного люминесцирующего штамма *E.coli* прогрессивно убывала в ряду: Zn → CuZn (сплав) → CuZn (смесь) → Cu. Сплав и смесь металлов-антагонистов Zn и Cu проявляет наименьшую токсичность по сравнению с индивидуальным тестированием Zn.

Работа выполнена в рамках исследований по проекту № 18-8-9-19

Литература

1. Биологическая активность ионов, нано- и микрочастиц Cu и Fe в тесте ингибирования бактериальной биолюминисценции / Д.Г. Дерябин, Е.С. Алешина, Т.Д. Дерябина, Л.В. Ефремова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2011. Вып. 6. С. 31-36. [Deryabin DG, Aleshina ES, Deryabina TD, Efremova LV. Biological activity of ions, nano- and micro-sized Cu and Fe particles determined with a bioluminescence inhibition assay. Questions of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry. 2011;6:31-36. (*In Russ*)].
2. Действие наночастиц Al₂O₃ на почвенный микробиоценоз, состояние антиоксидантной системы и микрофлору кишечника красного калифорнийского червя (*Eisenia foetida*) / Е.В. Яушева, Е.А. Сизова, И.А. Гавриш, С.В. Лебедев, Ф.Г. Каюмов // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. № 1. С. 191-199. doi: 10.15389/agrobiology.2017.1.191eng [Yausheva EV, Sizova EA, Gavrish IA, Lebedev SV, Kayumov FG. Effect of Al₂O₃ nanoparticles on soil microbiocenosis, antioxidant status and intestinal microflora of red Californian worm (*Eisenia foetida*). Sel'skokhozyaistvennaya Biologia [Agricultural Biology]. 2017;52(1):191-199. doi: 10.15389/agrobiology.2017.1.191eng (*In Russ*)].
3. Дерябин Д.Г. Бактериальная биолюминисценция: фундаментальные и прикладные аспекты. М.: Наука, 2009. 246 с. [Deryabin DG. Bakterial'naya biolyuministssiya: fundamental'nye i prikladnyye aspekty. Moscow: Nauka; 2009: 246 p. (*In Russ*)].
4. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных / О.А. Богословская, Е.А. Сизова, В.С. Полякова, С.А. Мирошников, И.О. Лейпунский, И.П. Ольховская, Н.Н. Глущенко // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. № 2(96). С. 124-127. [Bogoslovskaya OA, Sizova EA, Polyakova VC, Miroshnikov SA, Leipunsky IO, Olkhovskaya IP, Glushchenko NN. Studying of safety of copper nanoparticles introduction with different physical-chemical characteristics into animals' organism. Vestnik of the Orenburg State University. 2009;2(96):124-127. (*In Russ*)].
5. Исследование взаимодействия углеродных наноматериалов с клетками *Escherichia coli* методом атомно-силовой микроскопии / Д.Г. Дерябин, А.С. Васильченко, Е.С. Алешина, А.С. Тлягулова, А.Н. Никиян // Российские нанотехнологии. 2010. Т. 5. № 11-12. С. 136-141. [Deryabin DG, Vasilchenko AS, Aleshina ES, Tlyagulova AS, Nikiyan AN. An investigation into the interaction between carbon-based nanomaterials and *Escherichia coli* cells using atomic force microscopy. Nanotechnologies in Russia. 2010;5(11-12):136-141. (*In Russ*)].
6. Исследование механизмов антибактериальной активности наночастиц меди в тестах на люминесцирующих штаммах *Escherichia coli* / Д.Г. Дерябин, Е.С. Алешина, А.С. Васильченко, Т.Д. Дерябина, Л.В. Ефремова, И.Ф. Каримов, Л.Б. Королевская // Российские нанотехнологии. 2013. Т. 8. Вып. 5-6. С. 113-118. [Deryabin DG, Aleshina ES, Vasilchenko AS, Deryabina TD, Efremova LV, Karimov IF, Korolevskaya LB. Investigation of copper nanoparticles antibacterial mechanisms tested by luminescent *Escherichia coli* strains. Nanotechnologies in Russia. 2013;8(5-6):113-118. (*In Russ*)].
7. К разработке критериев безопасности наночастиц металлов при введении их в организм животных / Е.А. Сизова, Т.Н. Холодилина, С.А. Мирошников, В.С. Полякова // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. 2011. Вып. 1. С. 40-42. [Sizova EA, Kholodilina TN, Miroshnikov SA, Polyakova VS. On development of safety criteria in metal nanoparticles while their introducing to animal organism. Vestnik of the Russian Academy of Agricultural Sciences. 2011;1:40-42. (*In Russ*)].
8. Лебедев С.В., Сизова Е.А., Гавриш И.А. Трофометаболический потенциал *Eisenia fetida* Savigny, 1826 (Oligochata, Lumbricidae), обусловленный присутствием в почве наночастиц меди и её оксида // Поволжский экологический журнал. 2017. № 2. С. 147-156. doi: 10.18500/1684-7318-2017-2-147-156 [Lebedev SV, Sizova EA, Gavrish IA. Trophometabolic potential of *Eisenia fetida* Savigny, 1826 (Oligochata, Lumbricidae) caused by copper nanoparticles and copper oxide in the soil. Povolzhskiy Journal of Ecology. 2017;2:147-156. (*In Russ*)].

9. Мирошников С.А., Сизова Е.А. Наноматериалы в животноводстве (обзор) // Вестник мясного скотоводства. 2017. № 3(99). С. 7-22. [Miroshnikov SA, Sizova EA. Nanomaterials in animal husbandry (review). Herald of Beef Cattle Breeding. 2017;3(99):7-22. (In Russ)].
10. Морфологические изменения у пшеницы (*Triticum vulgare* L.) под влиянием наночастиц металлов (Fe, Cu, Ni) и их оксидов (Fe_3O_4 , CuO, NiO) / А.М. Короткова, С.В. Лебедев, Ф.Г. Каюмов, Е.А. Сизова // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. Вып. 1. С. 172-182. doi: 10.15389/agrobiology.2017.1.172eng [Korotkova AM, Lebedev SV, Kayumov FG, Sizova EA. Biological effects of wheat (*Triticum vulgare* L.) under the influence metal nanoparticles (Fe, Cu, Ni) and their oxides (Fe_3O_4 , CuO, NiO). Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. 2017;52(1):172-182. doi: 10.15389/agrobiology.2017.1.172eng (In Russ)].
11. МУ 1.2.2634-10 «Микробиологическая и молекулярно-генетическая оценка воздействия наноматериалов на представителей микробиоценоза» / Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. М., 2010. 59 с. [MU 1.2.2634-10 «Mikrobiologicheskaya i molekulyarno-geneticheskaya otsenka vozdeistviya nanomaterialov na predstavitelei mikrobiotsenoza». Federal'nyi Tsentri gigeny i epidemiologii Rospotrebnadzora. Moscow, 2010: 59 p. (In Russ)].
12. Оценка безопасности наноматериалов *in vitro* и в модельных системах *in vivo*. Методические рекомендации МР 1.2.2566-09. М., 2009. 71 с. [Otsenka bezopasnosti nanomaterialov *in vitro* i vmodel'nykh sistemakh *in vivo*. Metodicheskie rekomendatsii MR 1.2.2566-09. Moscow, 2009: 71 p. (In Russ)].
13. Сизова Е.А. Влияние включения в рацион наночастиц меди на уровень кадмия в организме цыплят-бройлеров // Вестник мясного скотоводства. 2017а. № 1(97). С. 13-20. [Sizova EA. Effect of copper nanoparticles introduced to the diet on cadmium level of broiler chickens. Herald of Beef Cattle Breeding. 2017a;1(97):13-20. (In Russ)].
14. Сизова Е.А. Сравнительная характеристика биологических эффектов разноразмерных наночастиц меди и железа // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2017b. № 3. С. 13-17. [Sizova EA. Comparative analysis of the different-sized copper and iron nanoparticles biological effects. Vestnik of the Russian Agricultural Science. 2017b;3:13-17. (In Russ)].
15. Сизова Е.А., Мирошников С.А., Калашников В.В. Цитоморфологические и биохимические показатели у крыс линии Wistar под влиянием молибденсодержащих наночастиц // Сельскохозяйственная биология. 2016. Вып. 51(6). С. 926-936. doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.929eng [Sizova EA, Miroshnikov SA, Kalashnikov VV. Morphological and biochemical parameters in Wistar rats influenced by molybdenum and its oxide nanoparticles. Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. 2016;51(6):929-936. (In Russ)]. doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.929eng
16. Сизова Е.А., Яушева Е.В. Сравнительная продуктивность цыплят-бройлеров при инъекционном введении разноразмерных ультрадисперсных частиц железа // Животноводство и кормопроизводство. 2019. Т. 102. № 1. С. 6-21. [Sizova EA, Yausheva EV. Comparative productivity of broiler chickens injected with variously sized ultrafine iron particles. Animal Husbandry and Fodder Production. 2019;102(1):6-21. (In Russ)]. doi: 10.33284/2658-3135-102-1-6
17. Adeyemi OS, Sulaiman FA. Evaluation of metal nanoparticles for drug delivery systems. The J Biomed Res. 2015;29(2):145-149. doi: 10.7555/JBR.28.20130096
18. Ajdary M, Ghahnavieh MZ, Naghsh NA. Sub-chronic toxicity of gold nanoparticles in male mice. Adv Biomed Res. 2015;25(4):67. doi: 10.4103/2277-9175.153890
19. Al Gurabi MA, Ali D, Alkahtani S, Alarifi S. In vivo DNA damaging and apoptotic potential of silver nanoparticles in Swiss albino mice. Onco Targets Ther. 2015;2015(8):295-302. doi: <https://doi.org/10.2147/OTT.S77572>
20. Ayres DM, Davis AP, Gietka PM. Removing heavy metals from wastewater. Engineering Research Centre Report. University of Maryland. 1994; 90 p.
21. Chen Z, Meng H, Xing G, et al. Acute toxicological effects of copper nanoparticles *in vivo*. Toxicol Letters. 2006;163(2):109-120. doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2005.10.003>

22. Haynes CL, Van Duyne RP. Nanosphere Lithography: a versatile nanofabrication tool for studies of size-dependent nanoparticle optics. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2001;105(24):5599-5611. doi: 10.1021/jp010657m
23. Ding L, Liu Z, Aggrey MO, Li C, Chen J, Tong L. Nanotoxicity: the toxicity research progress of metal and metal-containing nanoparticles. *Mini Rev Med Chem*. 2015;15(7):529-542. doi: 10.2174/138955751507150424104334
24. Gong M, Yang H, Zhang S, Yang Y, Zhang D, Qi Y, Zou L. Superparamagnetic core/shell GoldMag nanoparticles: size-, concentration- and time-dependent cellular nanotoxicity on human umbilical vein endothelial cells and the suitable conditions for magnetic resonance imaging. *J Nanobiotechnology*. 2015;13:24. doi: 10.1186/s12951-015-0080-x
25. Ko KS, Kong IC. Toxic effects of nanoparticles on bioluminescence activity, seed germination, and gene mutation. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2014;98(7):3295-3303. doi: 10.1007/s00253-013-5404-x
26. Książyk M, Asztemborska M, Sęborowski R, Bystrzejewska-Piotrowska G. Toxic effect of silver and platinum nanoparticles toward the freshwater microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2015;94(5):554-558. doi: 10.1007/s00128-015-1505-9
27. Li L, Fernández-Cruz ML, Connolly M, Conde E, Fernández M, Schuster M, Navas JM. The potentiation effect makes the difference: non-toxic concentrations of ZnO nanoparticles enhance Cu nanoparticle toxicity in vitro. *Sci Total Environ*. 2015;1(505):253-260. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.10.020
28. Lopes I, Ribeiro R, Antunes FE, Rocha-Santos TA, Rasteiro MG, Soares AM, Gonçalves F, Pereira R. Toxicity and genotoxicity of organic and inorganic nanoparticles to the bacteria *Vibrio fischeri* and *Salmonella typhimurium*. *Ecotoxicology*. 2012;21(3):637-648. doi: 10.1007/s10646-011-0808-9
29. Lu S, Zhang W, Zhang R, Liu P, Wang Q, Shang Y, Wu M, Donaldson K, Wang Q. Comparison of cellular toxicity caused by ambient ultrafine particles and engineered metal oxide nanoparticles. *Part Fibre Toxicol*. 2015;12(1):5. doi: 10.1186/s12989-015-0082-8.
30. Hamrahi-michak M, Sadeghi SA, Haghghi H, Ghanbari-kakavandi Y, Razavi-sheshdeh SA, Noughabi MT, Negahdary M. The toxicity effect of cerium oxide nanoparticles on blood cells of male Rat. *Annals of Biological Research*. 2012;3(6):2859-2866.
31. Miroshnikov S, Sizova E, Yausheva E, Uimin M, Konev A, Minin A, Yermakov A, Nikiyan H. Comparative toxicity of CuZn nanoparticles with different physical and chemical characteristics. *Oriental journal of Chemistry*. 2019;35(3):973-981. doi: <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/350308>
32. Mortimer M, Kasemets K, Heinlaan M, Kurvet I, Kahru A. High throughput kinetic *Vibrio fischeri* bioluminescence inhibition assay for study of toxic effects of nanoparticles. *Toxicol in Vitro*. 2008;22(5):1412-1417. doi: 10.1016/j.tiv.2008.02.011
33. Petersen EJ, Henry TB. Methodological considerations for testing the ecotoxicity of carbon nanotubes and fullerenes: review. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2012;31(1):60-72. doi: <https://doi.org/10.1002/etc.710>
34. Reed RB, Ladner DA, Higgins CP, Westerhoff P, Ranville JF. Solubility of nano-zinc oxide in environmentally and biologically important matrices. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2012;31(1):93-99. doi: <https://doi.org/10.1002/etc.708>
35. Reichle RA, McCurdy KG, Hepler LG. Zinc hydroxide: solubility product and hydroxy-complex stability constants from 12.5–75 °C. *Canadian Journal of Chemistry*. 1975;53(24):3841-3845. doi: <https://doi.org/10.1139/v75-556>
36. Risom L, Møller P, Loft S. Oxidative stress-induced DNA damage by particulate air pollution. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2005;592(1-2):119-137. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.06.012>
37. Shen MH, Zhou XX, Yang XY, Chao JB, Liu R, Liu JF. Exposure medium: key in identifying free Ag⁺ as the exclusive species of silver nanoparticles with acute toxicity to *Daphnia magna*. *Scientific Reports*. 2015;5:9674. doi: 10.1038/srep09674

38. Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Kaus NHM, Ann LC, Bakhori SKM, Hasan H, Mo-hamad D. Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*. 2015;7(3):219-242. doi: <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>
39. Sizova E, Miroshnikov S, Yausheva E, Kosyan D. Comparative characteristic of toxicity of nanoparticles using the test of bacterial bioluminescence. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*. 2015;12(2):361-368. doi: <http://dx.doi.org/10.13005/bbra/2211>
40. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci*. 2004;1:275(1):177-182. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.02.012>
41. Visnapuu M, Joost U, Juganson K, Künnis-Beres K, Kahru A, Kisand V, Ivask A. Dissolution of silver nanowires and nanospheres dictates their toxicity to *Escherichia coli*. *Biomed Res Int*. 2013;2013:819252. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/819252>
42. Wang B, Zhang Y, Mao Z, Yu D, Gao C. Toxicity of ZnO nanoparticles to macrophages due to cell uptake and intracellular release of zinc ions. *J Nanosci Nanotechnol*. 2014;14(8):5688-5696. doi: <https://doi.org/10.1166/jnn.2014.8876>
43. Do J, Wang S, You H, Zhao X. Understanding the toxicity of carbon nanotubes in the environment is crucial to the control of nanomaterials in producing and processing and the assessment of health risk for human: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2013;36(2):451-462. doi: [doi: 10.1016/j.etap.2013.05.007](https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.05.007)
44. Yang H, Liu C, Yang D, Zhang H, Xi Z. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. *J Appl Toxicol*. 2009;29(1):69-78. doi: [10.1002/jat.1385](https://doi.org/10.1002/jat.1385)
45. Yang L, Kuang H, Zhang W, Aguilar ZP, Xiong Y, Lai W, Xu H, Wei H. Size dependent biodistribution and toxicokinetics of iron oxide magnetic nanoparticles in mice. *Nanoscale*. 2015;7(2):625-636. doi: [10.1039/c4nr05061d](https://doi.org/10.1039/c4nr05061d)
46. Yu SS, Lau CM, Thomas SN, Jerome WG, Maron DJ, Dickerson JH, Hubbell JA, Giorgio TD. Size- and charge-dependent non-specific uptake of PEGylated nanoparticles by macrophages. *Int J Nanomedicine*. 2012;7:799-813. doi: <http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S28531>
47. Zhao Y, Nalwa HS. *Nanotoxicology – interactions of nanomaterials with biological systems*. American Scientific Publishers; 2006: 500 p.

References

1. Deryabin DG, Aleshina ES, Deryabina TD, Efremova LV. Biological activity of ions, nano- and micro-sized Cu and Fe particles determined with a bioluminescence inhibition assay. *Questions of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2011;6:31-36.
2. Yausheva EV, Sizova EA, Gavrish IA, Lebedev SV, Kayumov FG. Effect of Al₂O₃ nanoparticles on soil microbiocenosis, antioxidant status and intestinal microflora of red Californian worm (*Eisenia foetida*). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologia [Agricultural Biology]*. 2017;52(1):191-199. doi: [10.15389/agrobiology.2017.1.191eng](https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.1.191eng)
3. Deryabin DG. *Bacterial bioluminescence: fundamental and applied aspects*. Moscow: Nauka. 2009: 246 p.
4. Bogoslovskaya OA, Sizova EA, Polyakova VC, Miroshnikov SA, Leipunsky IO, Olkhovskaya IP, Glushchenko NN. Studying of safety of copper nanoparticles introduction with different physical-chemical characteristics into animals' organism. *Vestnik of the Orenburg State University*. 2009;2(96):124-127.
5. Deryabin DG, Vasilchenko AS, Aleshina ES, Tlyagulova AS, Nikiyan AN. An investigation into the interaction between carbon-based nanomaterials and *Escherichia coli* cells using atomic force microscopy. *Nanotechnologies in Russia*. 2010;5(11-12):136-141.
6. Deryabin DG, Aleshina ES, Vasilchenko AS, Deryabina TD, Efremova LV, Karimov IF, Korolevskaya LB. Investigation of copper nanoparticles antibacterial mechanisms tested by luminescent *Escherichia coli* strains. *Nanotechnologies in Russia*. 2013;8(5-6):113-118.

7. Sizova EA, Kholodilina TN, Miroshnikov SA, Polyakova VS. On development of safety criteria in metal nanoparticles while their introducing to animal organism. *Vestnik of the Russian Academy of Agricultural Sciences*. 2011;1:40-42.
8. Lebedev SV, Sizova EA, Gavrish IA. Trophometabolic potential of *Eisenia fetida* Savigny, 1826 (Oligochata, Lumbricidae) caused by copper nanoparticles and copper oxide in the soil. *Povolzhskiy Journal of Ecology*. 2017;2:147-156.
9. Miroshnikov SA, Sizova EA. Nanomaterials in animal husbandry (review). *Herald of Beef Cattle Breeding*. 2017;3(99):7-22.
10. Korotkova AM, Lebedev SV, Kayumov FG, Sizova EA. Biological effects of wheat (*Triticum vulgare* L.) under the influence metal nanoparticles (Fe, Cu, Ni) and their oxides (Fe₃O₄, CuO, NiO). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologia [Agricultural Biology]*. 2017;52(1):172-182. doi: 10.15389/agrobiology.2017.1.172eng
11. MU 1.2.2634-10 "Microbiological and molecular genetic assessment of nanomaterials in the representatives of the microbiocenosis". The Federal Center of hygiene and epidemiology of Rosпотребнадзор. Moscow. 2010: 59 p.
12. Safety assessment of nanomaterials in vitro and in vivo model systems. Methodical recommendations MP 1.2.2566-09. Moscow. 2009: 71 p.
13. Sizova EA. Effect of copper nanoparticles introduced to the diet on cadmium level of broiler chickens. *Herald of Beef Cattle Breeding*. 2017a;1(97):13-20.
14. Sizova EA. Comparative analysis of the different-sized copper and iron nanoparticles biological effects. *Vestnik of the Russian Agricultural Science*. 2017b;3:13-17.
15. Sizova EA, Miroshnikov SA, Kalashnikov VV. Morphological and biochemical parameters in Wistar rats influenced by molybdenum and its oxide nanoparticles. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2016;51(6):929-936. doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.929eng
16. Sizova EA, Yausheva EV. Comparative productivity of broiler chickens injected with variously sized ultrafine iron particles. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2019;102(1):6-21. doi: 10.33284/2658-3135-102-1-6
17. Adeyemi OS, Sulaiman FA. Evaluation of metal nanoparticles for drug delivery systems. *The J Biomed Res*. 2015;29(2):145-149. doi: 10.7555/JBR.28.20130096
18. Ajdary M, Ghahnavieh MZ, Naghsh NA. Sub-chronic toxicity of gold nanoparticles in male mice. *Adv Biomed Res*. 2015;25(4):67. doi: 10.4103/2277-9175.153890
19. Al Gurabi MA, Ali D, Alkahtani S, Alarifi S. In vivo DNA damaging and apoptotic potential of silver nanoparticles in Swiss albino mice. *Onco Targets Ther*. 2015;2015(8):295-302. doi: <https://doi.org/10.2147/OTT.S77572>
20. Ayres DM, Davis AP, Gietka PM. Removing heavy metals from wastewater. *Engineering Research Centre Report*. University of Maryland. 1994; 90 p.
21. Chen Z, Meng H, Xing G, et al. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicol Letters*. 2006;163(2):109-120. doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2005.10.003>
22. Haynes CL, Van Duyne RP. Nanosphere Lithography: a versatile nanofabrication tool for studies of size-dependent nanoparticle optics. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2001;105(24):5599-5611. doi: 10.1021/jp010657m
23. Ding L, Liu Z, Aggrey MO, Li C, Chen J, Tong L. Nanotoxicity: the toxicity research progress of metal and metal-containing nanoparticles. *Mini Rev Med Chem*. 2015;15(7):529-542. doi: 10.2174/138955751507150424104334
24. Gong M, Yang H, Zhang S, Yang Y, Zhang D, Qi Y, Zou L. Superparamagnetic core/shell GoldMag nanoparticles: size-, concentration- and time-dependent cellular nanotoxicity on human umbilical vein endothelial cells and the suitable conditions for magnetic resonance imaging. *J Nanobiotechnology*. 2015;13:24. doi: 10.1186/s12951-015-0080-x
25. Ko KS, Kong IC. Toxic effects of nanoparticles on bioluminescence activity, seed germination, and gene mutation. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2014;98(7):3295-3303. doi: 10.1007/s00253-013-5404-x

26. Książyk M, Asztemborska M, Stęborowski R, Bystrzejewska-Piotrowska G. Toxic effect of silver and platinum nanoparticles toward the freshwater microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2015;94(5):554-558. doi: 10.1007/s00128-015-1505-9
27. Li L, Fernández-Cruz ML, Connolly M, Conde E, Fernández M, Schuster M, Navas JM. The potentiation effect makes the difference: non-toxic concentrations of ZnO nanoparticles enhance Cu nanoparticle toxicity in vitro. *Sci Total Environ*. 2015;1(505):253-260. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.10.020
28. Lopes I, Ribeiro R, Antunes FE, Rocha-Santos TA, Rasteiro MG, Soares AM, Gonçalves F, Pereira R. Toxicity and genotoxicity of organic and inorganic nanoparticles to the bacteria *Vibrio fischeri* and *Salmonella typhimurium*. *Ecotoxicology*. 2012;21(3):637-648. doi: 10.1007/s10646-011-0808-9
29. Lu S, Zhang W, Zhang R, Liu P, Wang Q, Shang Y, Wu M, Donaldson K, Wang Q. Comparison of cellular toxicity caused by ambient ultrafine particles and engineered metal oxide nanoparticles. *Part Fibre Toxicol*. 2015;12(1):5. doi: 10.1186/s12989-015-0082-8.
30. Hamrahi-michak M, Sadeghi SA, Haghghi H, Ghanbari-kakavandi Y, Razavi-sheshdeh SA, Noughabi MT, Negahdary M. The toxicity effect of cerium oxide nanoparticles on blood cells of male Rat. *Annals of Biological Research*. 2012;3(6):2859-2866.
31. Miroshnikov S, Sizova E, Yausheva E, Uimin M, Konev A, Minin A, Yermakov A, Nikiyan H. Comparative toxicity of CuZn nanoparticles with different physical and chemical characteristics. *Oriental journal of Chemistry*. 2019;35(3):973-981. doi: <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/350308>
32. Mortimer M, Kasemets K, Heinlaan M, Kurvet I, Kahru A. High throughput kinetic *Vibrio fischeri* bioluminescence inhibition assay for study of toxic effects of nanoparticles. *Toxicol in Vitro*. 2008;22(5):1412-1417. doi: 10.1016/j.tiv.2008.02.011
33. Petersen EJ, Henry TB. Methodological considerations for testing the ecotoxicity of carbon nanotubes and fullerenes: review. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2012;31(1):60-72. doi: <https://doi.org/10.1002/etc.710>
34. Reed RB, Ladner DA, Higgins CP, Westerhoff P, Ranville JF. Solubility of nano-zinc oxide in environmentally and biologically important matrices. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2012;31(1):93-99. doi: <https://doi.org/10.1002/etc.708>
35. Reichle RA, McCurdy KG, Hepler LG. Zinc hydroxide: solubility product and hydroxy-complex stability constants from 12.5–75 °C. *Canadian Journal of Chemistry*. 1975;53(24):3841-3845. doi: <https://doi.org/10.1139/v75-556>
36. Risom L, Møller P, Loft S. Oxidative stress-induced DNA damage by particulate air pollution. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2005;592(1-2):119-137. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.06.012>
37. Shen MH, Zhou XX, Yang XY, Chao JB, Liu R, Liu JF. Exposure medium: key in identifying free Ag⁺ as the exclusive species of silver nanoparticles with acute toxicity to *Daphnia magna*. *Scientific Reports*. 2015;5:9674. doi: 10.1038/srep09674
38. Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Kaus NHM, Ann LC, Bakhori SKM, Hasan H, Mohamad D. Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*. 2015;7(3):219-242. doi: <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>
39. Sizova E, Miroshnikov S, Yausheva E, Kosyan D. Comparative characteristic of toxicity of nanoparticles using the test of bacterial bioluminescence. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*. 2015;12(2):361-368. doi: <http://dx.doi.org/10.13005/bbra/2211>
40. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci*. 2004;1:275(1):177-182. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.02.012>
41. Visnapuu M, Joost U, Juganson K, Künnis-Beres K, Kahru A, Kisand V, Ivask A. Dissolution of silver nanowires and nanospheres dictates their toxicity to *Escherichia coli*. *Biomed Res Int*. 2013;2013:819252. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/819252>

42. Wang B, Zhang Y, Mao Z, Yu D, Gao C. Toxicity of ZnO nanoparticles to macrophages due to cell uptake and intracellular release of zinc ions. *J Nanosci Nanotechnol.* 2014;14(8):5688-5696. doi: <https://doi.org/10.1166/jnn.2014.8876>
43. Do J, Wang S, You H, Zhao X. Understanding the toxicity of carbon nanotubes in the environment is crucial to the control of nanomaterials in producing and processing and the assessment of health risk for human: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 2013;36(2):451-462. doi: [10.1016/j.etap.2013.05.007](https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.05.007)
44. Yang H, Liu C, Yang D, Zhang H, Xi Z. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. *J Appl Toxicol.* 2009;29(1):69-78. doi: [10.1002/jat.1385](https://doi.org/10.1002/jat.1385)
45. Yang L, Kuang H, Zhang W, Aguilar ZP, Xiong Y, Lai W, Xu H, Wei H. Size dependent biodistribution and toxicokinetics of iron oxide magnetic nanoparticles in mice. *Nanoscale.* 2015;7(2):625-636. doi: [10.1039/c4nr05061d](https://doi.org/10.1039/c4nr05061d)
46. Yu SS, Lau CM, Thomas SN, Jerome WG, Maron DJ, Dickerson JH, Hubbell JA, Giorgio TD. Size- and charge-dependent non-specific uptake of PEGylated nanoparticles by macrophages. *Int J Nanomedicine.* 2012;7:799-813. doi: <http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S28531>
47. Zhao Y, Nalwa HS. *Nanotoxicology – interactions of nanomaterials with biological systems.* American Scientific Publishers; 2006: 500 p.

Сизова Елена Анатольевна, доктор биологических наук, руководитель центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве», Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29, тел.: 8-912-344-99-07, e-mail: Sizova.L78@yandex.ru; профессор кафедры биологии и почвоведения, Оренбургский государственный университет, 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13

Яушева Елена Владимировна, кандидат биологических наук, научный сотрудник центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве», Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29

Нечитайло Ксения Сергеевна, аспирант 2-го года обучения, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января д. 29

Иванищева Анастасия Павловна, лаборант-исследователь центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве», Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января д. 29, тел.: 8-987-843-58-22, e-mail: n79228964398@yandex.ua

Поступила в редакцию 15 ноября 2019 г.; принята после решения редколлегии 16 декабря 2019 г.; опубликована 31 декабря 2019 г. / Received: 15 November 2019; Accepted: 16 December 2019; Published: 31 December 2019