

© Шумакова А.А., 2018

УДК 615.9+613.2

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ АДСОРБЦИИ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА НАНОЧАСТИЦАХ

А.А. Шумакова

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи» Минобрнауки России, Устьинский проезд, д. 2/14, г. Москва, 109240, Россия

В результате экспериментов *in vivo*, проведенных в ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», было показано как увеличение, так и снижение токсичности некоторых загрязнителей (Pb и Cd) при их совместном поступлении с наночастицами (НЧ). Одним из возможных объяснений различий в уровнях накопления Pb и Cd при совместном поступлении с НЧ может быть различие в адсорбционной способности НЧ по отношению к ионам Pb^{2+} и Cd^{2+} . Для проверки данной гипотезы был проведен эксперимент *in vitro*, характеризующий возможность адсорбции ионов Pb^{2+} и Cd^{2+} на НЧ в модельной системе. На основании полученных в ходе работы результатов рассчитывали A_{max} (максимальная предельная адсорбция, соответствующая насыщению адсорбционного слоя, мкмоль/мг), b (константа нестойкости связывания (концентрация 50%-го связывания), мкмоль/мг) и строили уравнения изотерм адсорбции в двойных обратных координатах. В результате исследований показано, что в случае адсорбции Pb^{2+} на НЧ TiO_2 , НЧ SiO_2 и НЧ Al_2O_3 выполняется уравнение однослойной равновесной изотермы адсорбции по Ленгмюру. Максимальная адсорбция Pb^{2+} на трех видах НЧ различается незначительно. В случае адсорбции Cd^{2+} на НЧ трех видов уравнение изотермы адсорбции Ленгмюра не выполняется. Ввиду этого в отношении Cd константы b и A_{max} не могут быть корректно определены. Причина этого, по-видимому, состоит в том, что процесс связывания ионов Cd^{2+} на изученных видах НЧ не подчиняется модели однослойной, полностью обратимой адсорбции.

Ключевые слова: наночастицы, адсорбция, *in vivo*, *in vitro*, свинец, кадмий, токсичность.

A.A. Shumakova □ **STUDYING THE POSSIBILITY OF ADSORPTION OF HEAVY METAL IONS ON NANOPARTICLES** □ Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology, Ministry of Education and Science of the Russian Federation, 2/14, Ustinsky Lane, Moscow, 109240, Russia.

We found both an increase and a decrease in the toxicity of some contaminants (Pb and Cd) when combined with the NP as a result of *in vivo* experiments conducted in Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology. One possible explanation for the differences in Pb and Cd accumulation levels when combined with NPs can be the difference in the adsorption capacity of NPs with respect to Pb^{2+} and Cd^{2+} ions. To verify this hypothesis, an *in vitro* experiment was carried out, which characterizes the possibility of adsorption of Pb^{2+} and Cd^{2+} ions on the NPs in a model system. We calculated A_{max} (maximum limiting adsorption corresponding to the saturation of the adsorption layer, $\mu\text{mol}/\text{mg}$), b (binding constant for instability (concentration of 50 % binding), $\mu\text{mol}/\text{mg}$) based on the results obtained during the work and constructed the equations of the adsorption isotherms in double inverse coordinates. As a result of studies, we determined that in the case of Pb^{2+} adsorption on TiO_2 NPs, SiO_2 NPs and Al_2O_3 NPs, the equation of a single-layer equilibrium adsorption isotherm according to Langmuir is performed. The maximum adsorption of Pb^{2+} on the three types of NPs differs slightly. The Langmuir adsorption isotherm equation is not satisfied in the case of the adsorption of Cd^{2+} on the three NP types. Therefore, with respect to Cd, the constants b and A_{max} cannot be correctly defined. The reason for this, apparently, is that the process of binding of Cd^{2+} ions on the studied types of NPs does not obey the model of single-layer, completely reversible adsorption.

Key words: nanoparticles, absorption, *in vivo*, *in vitro*, lead, cadmium, toxicity.

В последние годы постоянно увеличивается производство искусственных наночастиц (НЧ) и наноматериалов (НМ), используемых для различных областей промышленности, в том числе при производстве потребительской продукции, среди которых лекарственные средства и биологически активные добавки к пище [6]. При этом необходимо учитывать, что НЧ и НМ постоянно присутствуют в объектах окружающей среды и пищевой продукции в комплексе с традиционными загрязнителями, такими как, например, токсичные элементы [5]. В связи с наличием у НЧ физико-химических свойств, отличных от свойств этих же веществ в макродисперстной форме, становится актуальной проблема рисков возможной модификации токсического действия химических загрязнителей под воздействием НЧ и НМ, которые могут выступать в качестве их «транспортёров» во внутреннюю среду организма и усиливать их

токсичность [8]. В результате экспериментов *in vivo*, ранее проведенных в ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», было показано как увеличение, так и снижение токсичности некоторых загрязнителей (Pb и Cd) при их совместном поступлении с НЧ. В экспериментах при совместном введении Pb и НЧ TiO_2 было выявлено снижение концентрации гемоглобина в крови с возрастанием дозы НЧ TiO_2 , содержания лимфоцитов и тромбоцитов в крови, накопления Pb в почках, селезенке, мозге и семенниках при увеличении активности щелочной фосфатазы сыворотки крови, достоверном увеличении количества гепатоцитов, находящихся в ранней стадии апоптоза и накопления свинца, по сравнению с животными, получавшими только Pb. Есть, следовательно, все основания полагать, что вышеуказанные признаки усиления токсического действия не могут быть объяснены действием Pb, а обусловлены и дейст-

нием НЧ TiO_2 [1]. На основании полученных результатов в отношении сочетанного действия НЧ SiO_2 различной размерности и Pb можно заключить, что имеет место некоторое снижение проявления токсического действия Pb в присутствии НЧ SiO_2 , выражающееся в увеличении концентрации Hb в крови, стабилизации или даже в тенденции к снижению экскреции 5-АЛК и порфобилиногена с мочой [1, 2]. Полученные результаты в отношении НЧ Al_2O_3 показывают, что последние, присутствующие в качестве потенциальных контаминантов в объектах окружающей среды и пищевой продукции, способны усиливать бионакопление Pb и увеличивать проявления его токсичности [3]. Таким образом, в результате изучения влияния искусственных НЧ на показатели биораспределения токсичных элементов по органам, а также ряда биомаркеров их токсического действия, показано наличие как синергических, так и антагонистических эффектов различных видов НЧ при их взаимодействии с Pb и Cd [4, 7]. В целом можно заключить, что в результате были получены данные, требующие дополнительных подтверждений. Одним из возможных объяснений различий в уровнях накопления Pb^{2+} и Cd^{2+} при сочетанном поступлении с НЧ может быть различие в адсорбционной способности этих НЧ по отношению к ионам Pb^{2+} и Cd^{2+} . Для проверки данной гипотезы был проведен эксперимент *in vitro*, характеризующий возможность адсорбции ионов Pb^{2+} и Cd^{2+} на НЧ в модельной системе.

Цель исследования – определить степень адсорбции НЧ SiO_2 , НЧ TiO_2 и НЧ Al_2O_3 по отношению к ионам Pb^{2+} и Cd^{2+} .

Материалы и методы. В качестве буфера был выбран 0,05 М раствор NaHCO_3 с pH 8, воспроизводящий среду, характерную для тонкой кишки. Используя растворы Pb^{2+} и Cd^{2+} (ГСО № 7778-2000 и № 7773-2000), готовили

рабочие растворы с концентрациями, указанными в табл. 1, 2.

После растворения НЧ SiO_2 , НЧ TiO_2 и НЧ Al_2O_3 в буферном растворе полученные суспензии обрабатывали на ультразвуковом погружном диспергаторе при мощности 2 Вт/см³ в течение 5 минут. Инкубацию проводили в термостате при температуре 37 °С в течение 3 часов, далее центрифугировали при 4 500 об./мин, $t = 22$ °С в течение 30 минут. В надосадочной жидкости количественно определяли содержание Pb и Cd методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (на приборе ICP-MS (7700x) («Agilent Technologies», Япония).

Результаты исследования. На основании полученных результатов рассчитывали адсорбцию ионов Pb^{2+} и Cd^{2+} .

В табл. 3 приведены расчетные величины параметров адсорбции (A_{max} – максимальная предельная адсорбция, соответствующая насыщению адсорбционного слоя, мкмоль/мг; b – константа нестойкости связывания (концентрация 50%-го связывания), мкмоль/мг), а на рис. 1 – уравнения изотерм адсорбции в двойных обратных координатах.

В результате исследований показано, что в случае адсорбции Pb^{2+} на НЧ TiO_2 , НЧ SiO_2 и НЧ Al_2O_3 выполняется уравнение однослойной равновесной изотермы адсорбции по Ленгмюру. Максимальная адсорбция Pb^{2+} на трех видах НЧ различается незначительно. Вместе с тем прочность связывания (средство), являющаяся величиной, обратной по отношению к константе b , оказывается наибольшей в случае использования НЧ SiO_2 и наименьшей – в случае использования НЧ Al_2O_3 . Отсюда можно предположить, что в условиях *in vivo* в случае НЧ SiO_2 , слабо всасываемых в кишечнике, преобладает более прочное связывание ионов Pb^{2+} с этими НЧ с удерживанием их в просвете кишечника.

Таблица 1. Концентрации растворов Pb^{2+} и НЧ для инкубации

Table 1. Concentrations of Pb^{2+} and NP solutions for incubation

Концентрация НЧ, 1 мг/см ³	Исходная концентрация Pb^{2+} , мкмоль/дм ³						
НЧ TiO_2	250,0	125,0	62,5	31,2	15,6	7,8	3,9
НЧ Al_2O_3	250,0	125,0	62,5	31,2	15,6	7,8	3,9
НЧ SiO_2 (300 м ² /г)	250,0	125,0	62,5	31,2	15,6	7,8	3,9

Таблица 2. Концентрации растворов Cd^{2+} и НЧ для инкубации

Table 2. Concentrations of Cd^{2+} and NP solutions for incubation

Концентрация НМ, 1 мг/см ³	Исходная концентрация Cd^{2+} , мкмоль/дм ³					
НЧ TiO_2	100,0	80,0	60,0	40,0	20,0	10,0
НЧ Al_2O_3	100,0	80,0	60,0	40,0	20,0	10,0
НЧ SiO_2 (300 м ² /г)	100,0	80,0	60,0	40,0	20,0	10,0

Таблица 3. Изотермы адсорбции A_{max} и b в двойных обратных координатах

Table 3. Adsorption isotherms of A_{max} and b in double inverse coordinates

Ионы тяжелых металлов	Тип наночастиц		
	НЧ TiO_2	НЧ Al_2O_3	НЧ SiO_2
Pb^{2+}	$A_{\text{max}} = 11,3$ мкмоль/дм ³ $b = 11,8$ мкмоль/мг	$A_{\text{max}} = 13,1$ мкмоль/дм ³ $b = 33,0$ мкмоль/мг	$A_{\text{max}} = 14,7$ мкмоль/дм ³ $b = 1,6$ мкмоль/мг
Cd^{2+}	$A_{\text{max}} = 0,16$ мкмоль/дм ³ $b = 10,72$ мкмоль/мг	$A_{\text{max}} = 0,067$ мкмоль/дм ³ $b = 12,45$ мкмоль/мг	$A_{\text{max}} = 0,24$ мкмоль/дм ³ $b = 12,19$ мкмоль/мг

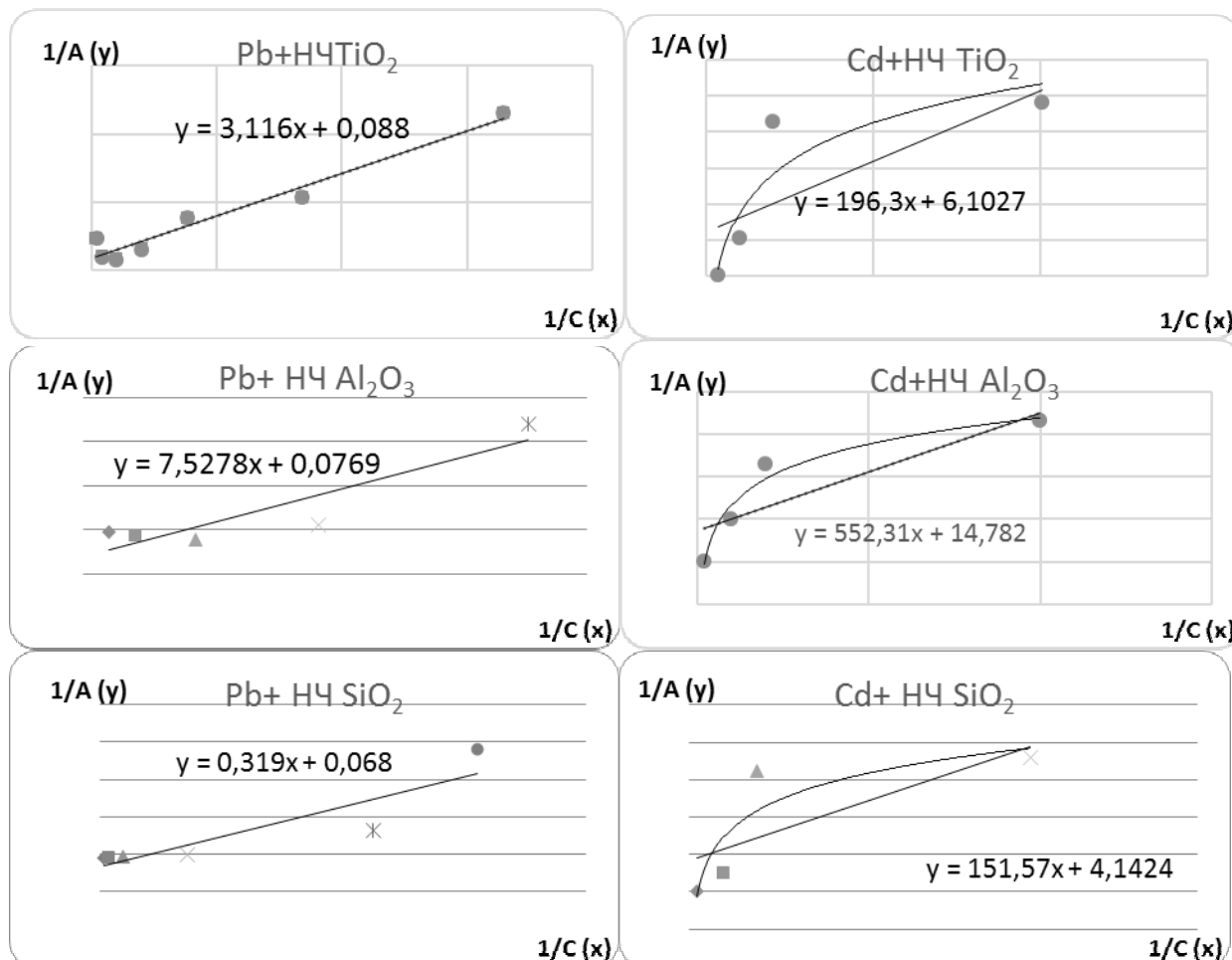


Рис. 1. Изотермы адсорбции свинца и кадмия на наночастицах

Fig. 1. Adsorption isotherms of lead and cadmium on nanoparticles

В случае использования НЧ Al_2O_3 связывание Pb^{2+} с ними оказывается менее прочным, что создает условия для динамического равновесия адсорбции-десорбции Pb^{2+} в свободном и/или связанном виде с НЧ. Пара $\text{Pb}^{2+}/\text{HЧ TiO}_2$ в этом отношении занимает промежуточное положение. В случае адсорбции Cd^{2+} на НЧ трех видов уравнение изотермы адсорбции Ленгмюра не выполняется (зависимость между величинами, обратными адсорбции и равновесной концентрации, не аппроксимируется удовлетворительным образом уравнением линейной регрессии и в большей степени соответствует, по-видимому, гиперболической зависимости). Ввиду этого в отношении Cd константы b и A_{max} не могут быть корректно определены. Причина этого, по-видимому, состоит в том, что процесс связывания ионов Cd^{2+} на изученных видах НЧ не подчиняется модели однослойной, полностью обратимой адсорбции. Возможно, что вследствие различия в строении внешних электронных оболочек ионов Pb^{2+} и Cd^{2+} связывание последних на поверхности НЧ является необратимым, т. е. сопровождается формированием более прочных, чем электростатическое взаимодействие, химических связей (например, донорно-акцепторных). Кроме того, не исключено, что адсорбция Cd^{2+} на НЧ

в отличие от Pb^{2+} является многослойной. Эти обстоятельства также могут создавать условия для переноса дополнительных количеств Cd^{2+} в форме, связанной с НЧ, через кишечный барьер.

Полученные данные хорошо коррелируют со следующими результатами экспериментов *in vivo*, проведенных ранее:

- при совместном введении Pb и НЧ TiO_2 отсутствовали достоверные изменения в накоплении Pb в печени крыс, хотя отмечалось некоторое увеличение этой тенденции. В остальных органах (почках, селезенке, семенниках и головном мозге) накопление Pb было ниже, чем у животных контрольной группы. Эти данные согласуются с результатами, полученными в исследованиях *in vitro*, и доказывают, что основную роль в эффектах влияния НЧ TiO_2 на бионакопление Pb играет его адсорбция на НЧ в просвете кишечника;

- при изучении сочетанного действия Pb и НЧ Al_2O_3 наблюдалось многократное и достоверное увеличение накопления Pb с возрастанием дозы НЧ Al_2O_3 в печени крыс. Похожий эффект для селезенки являлся менее выраженным и выявлялся только при малой дозе НЧ. Для остальных органов и тканей введение различных доз НЧ Al_2O_3 существенного влияния на бионакопление Pb не оказывало;

– при совместном введении Pb и НЧ SiO₂ в малой и большой дозах не происходило увеличения накопления Pb во всех изученных органах.

Заключение. В процессе выполнения настоящей работы были получены данные, в ряде случаев характеризующие увеличение токсичности модельных токсикантов (Pb и Cd) при их совместном поступлении с различными видами НМ. Поскольку различные контаминанты практически всегда присутствуют как в пищевой продукции, так и в объектах окружающей среды (воздух, вода) в самых различных концентрациях и сочетаниях, необходимы дальнейшие исследования по оценке риска для здоровья человека совместного поступления приоритетных контаминантов в сочетании с НМ. Данные разработки являются основой для проведения процедуры возможного регламентирования НМ и НЧ в объектах окружающей среды и пищевой продукции.

ЛИТЕРАТУРА (п. 5–8 см. References)

1. Шумакова А.А., Трушина Э.Н., Мустафина О.К. и др. Влияние наночастиц диоксида титана и диоксида кремния на накопление и токсичность свинца в эксперименте при их внутрижелудочном введении // Вопросы питания. 2014. Т. 83. № 2. С. 57–63.
2. Шумакова А.А., Трушина Э.Н., Мустафина О.К. и др. Токсичность кадмия при его совместном введении с диоксидом титана (рутил), наноструктурным диоксидом кремния и фуллеренолом // Профилактическая и клиническая медицина. 2015. Т. 1. № 54. С. 86–93.
3. Шумакова А.А., Трушина Э.Н., Мустафина О.К. и др. Токсичность свинца при его совместном введении с наноструктурным диоксидом кремния // Вопросы питания. 2015. Т. 84. № 2. С. 10–18.
4. Шумакова А.А., Трушина Э.Н., Мустафина О.К. и др. Токсичность свинца при его совместном введении с наночастицами оксида алюминия крысам // Вопросы питания. 2015. Т. 84. № 3. С. 40–49.

REFERENCES

1. Shumakova A.A., Trushina E.N., Mustafina O.K. et al. Vliyanie nanochastits dioksida titana i dioksida kremniya na nakoplenie i toksichnost' svintsa v eksperimente pri ikh vntrizheludochnom vvedenii [Effect of titanium dioxide and silicon dioxide nanoparticles on lead accumulation and toxicity in the experiment with their intragastric

- administration]. *Voprosy pitaniya*, 2014, vol. 83, no. 2, pp. 57–63. (In Russ.)
2. Shumakova A.A., Trushina E.N., Mustafina O.K. et al. Toksichnost' kadmiya pri ego sovmestnom vvedenii s dioksidom titana (rutil), nanostrukturnym dioksidom kremniya i fullerolom [Cadmium toxicity at its co-administration with titanium dioxide (rutile), nanostructured silicon dioxide and fullerene]. *Profilakticheskaya i klinicheskaya meditsina*, 2015, vol. 1, no. 54, pp. 86–93. (In Russ.)
3. Shumakova A.A., Trushina E.N., Mustafina O.K. et al. Toksichnost' svintsa pri ego sovmestnom vvedenii s nanostrukturnym dioksidom kremniya [Lead toxicity at its co-administration with nanostructured silicon dioxide]. *Voprosy pitaniya*, 2015, vol. 84, no. 2, pp. 10–18. (In Russ.)
4. Shumakova A.A., Trushina E.N., Mustafina O.K. et al. Toksichnost' svintsa pri ego sovmestnom vvedenii s nanochastitsami oksida alyuminiya krysam [Lead toxicity at its co-administration with aluminum oxide nanoparticles in rats]. *Voprosy pitaniya*, 2015, vol. 84, no.3, pp.40–49. (In Russ.)
5. Holsapple M.P., Farland W.H., Landry T.D., Monteiro-Riviere N.A., Carter J.M., Walker N.J., Thomas K.V. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part II: toxicological and safety evaluation of nanomaterials, current challenges and data needs. *Toxicol Sci*, 2005, no. 88 (1), pp. 12–17.
6. Shipelin V.A., Shumakova A.A., Gmshinski I.V. Experimental Data On Risk Assessment Of Silver Nanoparticles. «Nanoworkshop» 7th International Conference «Nanoparticles, nanostructured coatings and microcontainers: technology, properties, applications». DOI: 10.13140/RG.2.1.3870.8722
7. Shumakova A.A., Gmshinski I.V., Khotimchenko S.A., Trushina E.N. Interaction of engineered nanoparticles with toxic and essential elements // IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering 98 (2015) 012043 DOI: 10.1088/1757-899X/98/1/012043
8. Ying Zhu et al. The biocompatibility of nanodiamonds and their application in drug delivery systems // The 7th International Nanotoxicology Congress «NanoTox2014»: Materials of the conference. Antalya, Turkey, 2014, 256 p.

Контактная информация:

Шумакова Антонина Александровна, научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»
e-mail: antonina_sh@list.ru

Contact information:

Shumakova Antonina, Research associate of the Laboratory of food toxicology and safety assessment of nanotechnology Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology
e-mail: antonina_sh@list.ru

