

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 502/504

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ТЕХНОГЕННЫХ НАНОЧАСТИЦ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВОДОРОСЛИ *CHLORELLA VULGARIS*

А. А. Асанова¹, В.И. Полонский¹,
Ю. С. Григорьев²

¹ФГБОУ ВО Красноярский
государственный аграрный университет,
Институт агроэкологических технологий,
660049, г. Красноярск, Российская
Федерация

²ФГАОУ ВО Сибирский федеральный
университет, Институт экологии и
географии, 660041, г. Красноярск,
Российская Федерация

Применение наночастиц с каждым годом охватывает новые сферы производства. Их проникновение в окружающую среду возможно на любом этапе существования: от процесса изготовления до утилизации в составе конечного продукта, поэтому вероятные риски для различных объектов окружающей среды должны быть оценены. Целью настоящей работы является оценка влияния техногенных наночастиц на рост и фотосинтетическую активность *Chlorella vulgaris*. Исследованы токсические свойства трех видов наночастиц: TiO_2 размером 100-190 нм, SiO_2 размерами 10-15 нм и 100-120 нм. В качестве тест-организма использовали водоросль *Chlorella vulgaris* Beijer. Оценка токсичности наночастиц проводили по изменению относительного показателя замедленной флуоресценции (ОПЗФ), характеризующего фотосинтетическую активность микроводоросли. Воздействие на рост тест-культуры определяли по величине оптической плотности (ОП) водорослевой суспензии. Было установлено, что наночастицы TiO_2 незначительно снижали рост и активность фотосинтетического аппарата клеток. Крупные частицы SiO_2 оказались более токсичными, чем частицы меньшего размера. Для наночастиц 100-120 нм величина EC_{50} по показателю ОП составила 8 мг/дм³, тогда как частицы размером 10-15 нм не проявляли заметного влияния на рост культуры. По параметру ОПЗФ крупные частицы SiO_2 также оказались более токсичными, чем мелкие.

Ключевые слова: наночастицы; нанотоксичность; *Chlorella vulgaris*; биотестирование; замедленная флуоресценция хлорофилла; оптическая плотность.

Введение. Производство и использование наночастиц в промышленных товарах с каждым годом возрастает [1]. Наночастицы диоксида кремния применяются в строительстве, катализе, в качестве пигментов красок, в фармацевтике, а наночастицы диоксида титана входят в состав солнцезащитных кремов, самоочищающихся поверхностей и красок, солнечных батарей [2]. Про-

никновение наночастиц в окружающую среду возможно на любом этапе их существования: от производства до утилизации в составе конечного продукта. Таким образом, увеличение выпуска последних неизбежно приводит к повышению содержания наночастиц в окружающей среде [3].

Вопрос оценки токсичности техногенных наночастиц активно решается методами биотести-

Асанова Анастасия Андреевна (Asanova Anastasiya Andreevna), аспирант кафедры ландшафтной архитектуры, ботаники, агроэкологии Красноярского ГАУ, . 660049, г. Красноярск, nastasia.asanova@gmail.com;

Полонский Вадим Игоревич (Polonskiy Vadim Igorevich); доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры ландшафтной архитектуры, ботаники, агроэкологии Красноярского ГАУ, 660049, г. Красноярск.

Григорьев Юрий Сергеевич (Grigoriev Yuriy Sergeevich), кандидат биологических наук, ученое звание -доцент, профессор каф. экологии и природопользования Институт экологии и географии, Сибирский федеральный университет, 660041, г. Красноярск gr2897@gmail.com.

рования с использованием различных тест-организмов. Токсикологические эксперименты с наночастицами были выполнены на многих объектах, в том числе, в водном рачке *Daphnia magna* [4, 5, 6], на бактериях *Escherichia coli* [7] и *Vibrio fischeri* [4] на одноклеточной водоросли *Pseudokirchneriella subcapitata* [5; 6], рыбах *Danio rerio* [5; 6; 8] и нематоды *Caenorhabditis elegans* [9]. Полученные данные свидетельствуют о широком диапазоне концентраций, оказывающих 50% подавление контролируемой функции у исследованных тест-организмов. Так, например, величина EC_{50} для наночастиц TiO_2 лежит в диапазоне от 6,8–589 мг/л [10].

В связи с этим остается актуальным поиск наиболее чувствительного тест-организма(ов) для определения токсичности объектов окружающей среды, загрязненных наночастицами. Немаловажным качеством такого тест-объекта является время его ответной реакции на воздействие наночастиц.

Целью настоящей работы является оценка влияния наночастиц на рост и фотосинтетическую активность *Chlorella vulgaris*. Обе эти тест-функции позволяют оперативно устанавливать степень воздействия токсических веществ на клетки водоросли [11; 12] и уже были применены для оценки токсичности наночастиц [13].

Материалы и методы исследования. В качестве объекта исследования были взяты наночастицы, наиболее часто применяемые при производстве потребительских товаров. В работе использована порошкообразная смесь наноразмерных частиц диоксида титана (TiO_2) анатаза и рутила сферической формы с размером частиц 100–190 нм. Кроме того использован диоксид кремния (SiO_2) в виде препарата «Plasmotherm» (Россия), который имел размер наночастиц 10–15 нм и 100–120 нм. Для получения более высокой дисперсности материала суспензии в течение 30 минут подвергали ультразвуковой обработке с частотой 35 кГц в приборе Wise Clean (Dihan).

Оценка токсического воздействия наночастиц определялась на культуре пресноводной микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijer, находящейся в экспоненциальной стадии роста. Хлорелла культивировалась на 50% среде Тамия в культиваторе КВ-05 при температуре 36°C и непрерывном облучении белым светом от светодиодных источников интенсивностью 60 Вт/м². Поступление углекислого газа из воздушной среды (0,03%) обеспечивалось активным перемешиванием растущей культуры водоросли.

Биотестирование проводилось согласно методике [14] в многокюветном культиваторе КВМ-05. Прирост тест-культур оценивали по изменению оптической плотности суспензии водоросли с помощью прибора ИПС-03. Начальная оптиче-

ская плотность засеваемых тест-культур водоросли во флаконе диаметром 2 см при длине волны 560 нм составляла 0,005. Численность клеток такой культуры, определяемая прямым счетом в камере Горяева, составляла 60-70 тысяч клеток/см³. За 22 часа культивирования оптическая плотность водорослевой суспензии в контрольном варианте опыта увеличивалась до 0,150±0,030, т.е. в 30 раз. Каждый из 6-ти вариантов экспериментов, одновременно проводимых в культиваторе КВМ-05, выполнялся в 4-х аналитических повторностях (параллелях). Снижение оптической плотности в опытных образцах по отношению к контролю в процентном отношении рассчитывали по формуле: $= 100\% \cdot (-) /$, где и средние значения оптической плотности в контроле и в опыте, соответственно.

Оценка токсичности по изменению относительного показателя замедленной флуоресценции (ОПЗФ) тест-культуры водоросли хлорелла выполнялась по методике [12] на флуориметре Фотон 10. Величина данного показателя, представляющего собой отношение интенсивностей миллисекундной замедленной флуоресценции при возбуждении светом высокой и низкой интенсивностей, многократно снижается при подавлении фотосинтетической активности растительных клеток [15].

Для оценки токсичности наночастиц по показателю ОПЗФ в опытные кюветы вносили по 5 см³ препаратов частиц различной концентрации, в контрольном варианте использовали дистиллированную воду. Тест-культуру водоросли с оптической плотностью 0,5 добавляли в кюветы в объеме 0,25 см³. В результате концентрация клеток кюветах составляла около 300 тысяч клеток/см³. Перед измерением ОПЗФ пробы в течение 1 часа подвергались засветке в культиваторе КВМ-05 при температуре 36±1°C. Отдельные эксперименты проводили без 1-часовой световой экспозиции. Снижение величины ОПЗФ в опытных образцах по отношению к контролю рассчитывали по формуле: $= 100\% \cdot (-) /$, где и средние значения ОПЗФ в контроле и опыте, соответственно.

В качестве критерия токсичности использовалась EC_{50} - концентрация наночастиц, при которой значения ЮП и ИЗФ тест-культуры хлореллы снижались по отношению к контролю на 50%. Определение каждой экспериментальной точки проводили в пяти повторностях. При статистической обработке результатов использовали критерий t Стьюдента, достоверными считали различия при $p \leq 0.05$.

Результаты и обсуждение

В первой серии экспериментов исследовали воздействие наночастиц диоксида титана на тест-культуру водоросли хлорелла. Полученные результаты, представленные на рисунке 1, по-

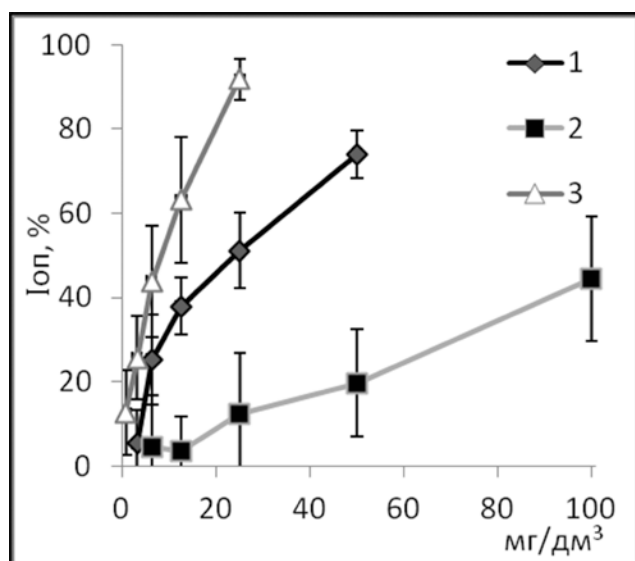


Рис. 1. Индекс снижения оптической плотности суспензии хлореллы по отношению к контрольному варианту после 22 часов культивирования при различных концентрациях: 1 – диоксида титана, 2 – диоксида кремния размером 10-15 нм, 3 – диоксида кремния размером 100-120 нм.

казывают, что в присутствии высокой концентрации диоксида титана в среде, наблюдается подавление прироста водоросли, значение EC_{50} составило 26 мг/дм³ (табл.). При изучении влияния этих же наночастиц на ОПЗФ хлореллы не было зарегистрировано сколько-либо значительного снижения величины данного показателя в диапазоне концентраций до 100 мг/дм³ (рис. 2). Очевидно, исследуемые наночастицы не оказывали прямого воздействия на первичные реакции фотосинтеза. Некоторое снижение ОПЗФ хлореллы в присутствии наночастиц титана удалось зарегистрировать только после 1-часовой засветки.

Исследование токсичности наноразмерного диоксида титана, выполненные на других тест-организмах, показали, что для водоросли *Desmodesmus subspicatus* 50% снижение роста в присутствии частиц размером 25 и 100 нм наблюдалось при 4 мг/дм³ и 50 мг/дм³, соответственно [6]. Аналогичное торможение роста водоросли *Pseudokirchneriella subcapitata* наночастицами диоксида титана имело место при концентрации 5,8 мг/дм³ [8]. В работе [16] показано, что величина EC_{50} в снижении роста водоросли *Chlorella* sp наночастицами анатаза с размером <25 нм составила 16,1 мг/дм³. В другой работе [17] такое же воздействие на рост этими наночастицами с размерами 5-10 нм имело место при концентрации 4,9 мг/дм³. Таким образом, наночастицы диоксида титана вызывают снижение роста тест-культур водорослей, степень которого, вероятно, зависит от размера и формы частиц, а также от видовой специфики объекта.

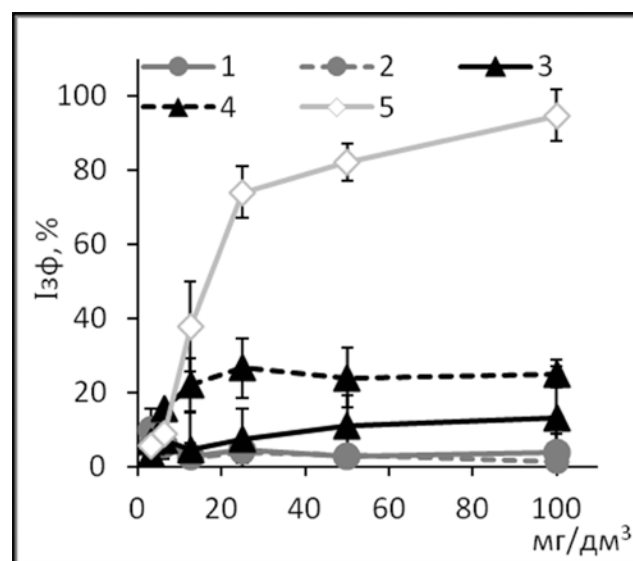


Рис. 2. Индекс снижения относительного показателя замедленной флуоресценции культуры водоросли при различной концентрации наночастиц: 1 и 2 – диоксида кремния размером 10-15 нм, 3 и 4 – диоксида титана до и после световой экспозиции, соответственно; 5 – диоксида кремния размером 100-120 нм до световой экспозиции.

Исследования характера влияния наночастиц диоксида кремния на прирост водоросли хлореллы показали (рис. 1), что частицы размером 10-15 нм оказывали существенно меньшее воздействие, чем более крупные частицы (100-120 нм). Так, если для частиц большего размера 50% подавление роста наблюдалось при концентрации 8 мг/дм³, то для мелких частиц такого воздействия не было выявлено даже при концентрации 100 мг/дм³.

Эксперименты, выполненные другими авторами с относительно мелкими наночастицами диоксида кремния (20-50 нм), также не выявили заметного эффекта на прирост водоросли *Chlorella* sp. в диапазоне концентраций до 1000 мг/дм³ [18]. Вместе с тем, при использовании в качестве тест-объекта других видов водорослей были получены иные результаты. Так, на культуре *Phaeodactylum tricornutum* меньшая токсичность отмечена для более крупных наночастиц диоксида кремния. Значения EC_{50} для наночастиц размерами 14 нм, 22 нм и 300 нм составили 48,6 мг/дм³, 160 мг/дм³ и 225 мг/дм³, соответственно [19]. Аналогичное действие наночастиц диоксида кремния (5, 26, 78 нм) показано на культуре *Chlorella kessler* – большей токсичностью обладали частицы меньшего размера [20].

Изучение влияния наночастиц кремния на ОПЗФ водоросли хлореллы показало (рис. 2), что внесение в среде частиц размером 100-120 нм приводило к быстрому снижению данного показателя, свидетельствуя о подавлении фотосинтетической функции тест-организма. Значение EC_{50} составило 16 мг/дм³. После 1-часовой экспозиции

Таблица

Значения EC_{50} тест-культуры водоросли хлорелла, рассчитанные по воздействию наночастиц на прирост (ОП) и замедленную флуоресценцию (ОПЗФ)

| Вид наночастиц | Размер наночастиц, нм | Значения EC_{50} , мг/дм ³ | | |
|------------------|-----------------------|---|-------------------------|---------------------------|
| | | снижение прироста (ОП) | снижение ОПЗФ | |
| | | | без световой экспозиции | после световой экспозиции |
| SiO ₂ | 10-15 | >100 | >100 | >100 |
| SiO ₂ | 100-120 | 8,1 ± 0,5 | 16 ± 1 | -* |
| TiO ₂ | 100-190 | 26,0 ± 1,4 | >100 | >100 |

*Не определялось

эффект на ЗФ усиливался и проявлялся в снижении свечения при возбуждении светом как высокой, так и низкой интенсивности. Наночастицы диоксида кремния размером 10-15 нм (рис. 2) практически не оказывали влияние на величину ОПЗФ водоросли в диапазоне до 100 мг/дм³. Дополнительная засветка не усилила воздействия этих наночастиц на фотосинтез водоросли.

Эти данные согласуются результатами работы [19], в которой найдено, что токсический эффект на водоросль *Chlorella vulgaris* крупных частиц диоксида кремния размером 300 нм, оцениваемый по снижению интенсивности флуоресценции, был существенно большим, чем частиц с меньшими размерами (14 и 22 нм).

Заключение. Таким образом, проведенные нами исследования показали, что наиболее сильное негативное воздействие на водоросль *Chlorella vulgaris* Beijer оказывали наночастицы диоксида кремния размером 100-120 нм. Биотест по воздействию исследованных наночастиц на прирост тест-культуры водоросли хлорелла является более чувствительным по сравнению с параметром ОПЗФ хлорофилла. Однако введение процедуры непродолжительной предварительной засветки тест-культуры в тестируемой пробе делает биотест на основе замедленной флуоресценции весьма перспективным для проведения оперативного мониторинга загрязнения водных сред наночастицами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Kessler R. Engineered nanoparticles in consumer products: understanding a new ingredient. *Environ Health Perspect.* 2011; 119 (3): A120-A1
- Contado C. Nanomaterials in consumer products: a challenging analytical problem. *Frontiers in chemistry.* 2015; 3: 1-
- Sun T., Gottschalk F., Hungerbuehler K., Nowak B. Comprehensive probabilistic modelling of environmental emissions of engineered nanomaterials. *Environmental Pollution.* 2014; 185: 69-
- Heinlaan M., Ivask A., Blinova I., Dubourguier H.-C., Kahru A. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere.* 2008; 71 (7): 1308-1316.
- Ribeiro F., Gallego-Urrea J., Jurkschat K., Crossley A., Hasselov M., Taylor C. et al. Silver nanoparticles and silver nitrate induce high toxicity to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio*. *Science of the Total Environment.* 2014; 466: 232-2
- Hund-Rinke K., Baun A., Cupi D., Fernandes T., Handy R., Kinross J. et al. Regulatory ecotoxicity testing of nanomaterials proposed modifications of OECD test guidelines based on laboratory experience with silver and titanium dioxide nanoparticles. *Nanotoxicology.* 2016; 10 (10): 1442-1447.
- Planchon M., Ferrari R., Guyot F., Gelabert A., Menguy N., Chaneac C. et al. Interaction between *Escherichia coli* and TiO₂ nanoparticles in natural and artificial waters. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 2013; 102: 158-1
- Aruoja V., Dubourguier H.C., Kasemets K., Kahru A. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Science of the total environment.* 2009; 407 (4): 1461-1468.
- Angelstorf J.S., Ahlf W., Kammer F., Heise S. Impact of particle size and light exposure on the effects of TiO₂ nanoparticles on *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 2014; 33 (10): 2288-2296.
- Juganson K., Ivask A., Blinova I., Mortimer M., Kahru A. Nano E-Tox: New and in-depth database concerning ecotoxicity of nanomaterials. *Beilstein Journal of Nanotechnology.* 2015; 6 (1): 1788-1804.
- ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04 / Т 16.1:2:2:3:3.7-Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления, М., 20
- ПНД Ф Т 14.1:2:4.16-09 / Т 16.1:2:3:3.14-Методика измерений относительного показателя замедленной флуоресценции культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления, М., 20
- Morgaleva T.G., Morgaleva Y.N., Gosteva I.A., Morgaleva S.Y. Range of Resistance of Hydrobionts to Medium Contamination with Manufactured Nanoparticles. *Nano Hybrids and Composites. Trans Tech Publications.* 2017; 13: 279-2
- ФП.1.39.2010.09103 Методика определения индекса токсичности нанопорошков, изделий из наноматериалов, нанопокртыи, отходов и осадков сточных вод, содержащих наночастицы, по изменению оптической плотности тест - культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer).
- Григорьев Ю.С., Андреев А.А., Кравчук И.С., Гекк П.И. Способ биотестирования токсичности вод и водных растворов // Патент РФ на изобретение № 2482474, опубл. 20.05.20Бюл. № 16. Sadiq I.M., Dalai S., Chandrasekaran N., Mukherjee A. Ecotoxicity study of titania (TiO₂) NPs on two microalgae species: *Scenedesmus* sp and *Chlorella* sp. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2011; 74 (5): 1180-11
- Lin D., Ji J., Long Z., Yang K., Wu F. The influence of dissolved and surface-bound humic acid on the toxicity of TiO₂ nanoparticles to *Chlorella* sp. *Water Research.* 2012; 46 (14): 4477-44
- Ji J., Long Z., Lin D. Toxicity of oxide nanoparticles to the green algae *Chlorella* sp. *Chemistry Engineering Journal.* 2011; 170 (2-3): 525-5
- Clement L., Zenerino A., Hurel C., Amigoni S., Givenchy E., Guittard F. et al. Toxicity assessment of silica nanoparticles, functionalised silica nanoparticles, and HASE-grafted silica nanoparticles. *Science of the Total Environment.* 2013; 450: P. 120-128.
- Fujiwara K., Suematsu H., Kiyomiya E., Aoki M., Sato M., Moritoki N. Size-dependent toxicity of silica nanoparticles to *Chlorella kessleri*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A.* 2008; 43 (10): 1167-1173.

REFERENCES:

1. Kessler R. Engineered nanoparticles in consumer products: understanding a new ingredient. *Environ Health Perspect.* 2011; 119 (3): A120-A1
2. Contado C. Nanomaterials in consumer products: a challenging analytical problem. *Frontiers in chemistry.* 2015; 3: 1-
3. Sun T., Gottschalk F., Hungerbühler K., Nowack B. Comprehensive probabilistic modelling of environmental emissions of engineered nanomaterials. *Environmental Pollution.* 2014; 185: 69-
4. Heinlaan M., Ivask A., Blinova I., Dubourguier H.-C., Kahru A. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere.* 2008; 71 (7): 1308-1316.
5. Ribeiro F., Gallego-Urrea J., Jurkschat K., Crossley A., Hasselov M., Taylor C. et al. Silver nanoparticles and silver nitrate induce high toxicity to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio*. *Science of the Total Environment.* 2014; 466: 232-2
6. Hund-Rinke K., Baun A., Cupi D., Fernandes T., Handy R., Kinross J. et al. Regulatory ecotoxicity testing of nanomaterials proposed modifications of OECD test guidelines based on laboratory experience with silver and titanium dioxide nanoparticles. *Nanotoxicology.* 2016; 10 (10): 1442-1447.
7. Planchon M., Ferrari R., Guyot F., Gelabert A., Menguy N., Chaneac C. et al. Interaction between *Escherichia coli* and TiO₂ nanoparticles in natural and artificial waters. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 2013; 102: 158-1
8. Aroja V., Dubourguier H.C., Kasemets K., Kahru A. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Science of the total environment.* 2009; 407 (4): 1461-1468.
9. Angelstorf J.S., Ahlf W., Kammer F., Heise S. Impact of particle size and light exposure on the effects of TiO₂ nanoparticles on *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 2014; 33 (10): 2288-2296.
10. Juganson K., Ivask A., Blinova I., Mortimer M., Kahru A. Nano E-Tox: New and in-depth database concerning ecotoxicity of nanomaterials. *Beilstein Journal of Nanotechnology.* 2015; 6 (1): 1788-1804.
11. PND FT 14.1:2:3:4.10-04 / T 16.1:2:2.3:3.7-Method for determining the toxicity of samples from surface fresh, subsoil, drinking waters, wastewaters, water extracts from soils, sewage sludge, and wastes by changes in the optical density of algae *Chlorella (Chlorella vulgaris Beijer)*, Moscow, 2014, (in Russian).
12. PND FT 14.1:2:4.16-09 / T 16.1:2:3:3.14-Method for determining the toxicity of drinking, natural and sewage water, water extracts from soils, sewage sludge and waste water by changing the relative index of delayed fluorescence of algae *Chlorella (Chlorella vulgaris Beijer)*, Moscow, 2014, (in Russian).
13. Morgaleva T.G., Morgalev Y.N., Gosteva I.A., Morgalev S.Y. Range of Resistance of Hydrobionts to Medium Contamination with Manufactured Nanoparticles. *Nano Hybrids and Composites.* Trans Tech Publications. 2017; 13: 279-2
14. Federal Register of the Russian Federation 1.39.2010.091Method for determination the toxicity index of nanopowders, products from nanomaterials, nanocoats, wastes and sludge sediments containing nanoparticles by changing the optical density of algae *Chlorella (Chlorella vulgaris Beijer)*, (in Russian).
15. Grigoriev Yu.S., Andreev A.A., Kravchuk I.S., Gekkk P.I. Method of biotesting the toxicity of water and aqueous solutions. Patent of the Russian Federation for invention № 2482474, publ. 05/20/20Bul. No. 14, (in Russian).
16. Sadiq I.M., Dalai S., Chandrasekaran N., Mukherjee A. Ecotoxicity study of titania (TiO₂) NPs on two microalgae species: *Scenedesmus sp* and *Chlorella sp.* *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2011; 74 (5): 1180-11
17. Lin D., Ji J., Long Z., Yang K., Wu F. The influence of dissolved and surface-bound humic acid on the toxicity of TiO₂ nanoparticles to *Chlorella sp.* *Water Research.* 2012; 46 (14): 4477-44
18. Ji J., Long Z., Lin D. Toxicity of oxide nanoparticles to the green algae *Chlorella sp.* *Chemistry Engineering Journal.* 2011; 170 (2-3): 525-5
19. Clement L., Zenerino A., Hurel C., Amigoni S., Givenchy E., Guittard F. et al. Toxicity assessment of silica nanoparticles, functionalised silica nanoparticles, and HASE-grafted silica nanoparticles. *Science of the Total Environment.* 2013; 450: P. 120-128.
20. Fujiwara K., Suematsu H., Kiyomiya E., Aoki M., Sato M., Moritoki N. Size-dependent toxicity of silica nanoparticles to *Chlorella kessleri*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A.* 2008; 43 (10): 1167-1173.

A.A. Asanova¹, V.I. Polonskiy¹, Y.S. Grigoriev²

TOXICITY ASSESSMENT OF ENGINEERED NANOPARTICLES USING ALGAE *CHLORELLA VULGARIS*

¹Krasnoyarsk State Agricultural University, 660049, Krasnoyarsk, Russian Federation

²Siberian Federal University, 660041, Krasnoyarsk, Russian Federation

The use of nanoparticles covers new spheres of production every year. Their release into the environment is possible at any stage of their lifespan: from the manufacturing process to the utilization in the final product; therefore potential risks they pose for various environmental objects should be evaluated. The purpose of this work was to assess the effect of technogenic nanoparticles on *Chlorella vulgaris* growth and photosynthetic activity. Toxic properties of three types of nanoparticles TiO₂ with a size of 100 to 190 nm, SiO₂ with dimensions of 10-15 nm and 100-120 nm have been studied. *Chlorella vulgaris* Beijer alga was used as test organism. The evaluation of nanoparticles toxicity was based on changes in the relative delayed fluorescence index (RDFI), which characterizes the photosynthetic activity of microalgae. The effect on the growth of the test culture was determined from the optical density (OD) of the algal suspension. It was found that the TiO₂ nanoparticles slightly reduced the growth and activity of the cell photosynthetic apparatus. Large particles of SiO₂ proved to be more toxic than smaller ones. For nanoparticles of 100-120 nm size, the EC₅₀ value according to the OD index was 8 mg/dm³, while the particles measuring 10-15 nm did not show a significant effect on the growth of the culture. Large SiO₂ particles also appeared more toxic than small particles, judging by RDFI parameter.

Keywords: nanoparticles; nanotoxicity; *Chlorella vulgaris*; biotesting; delayed fluorescence of chlorophyll; optical density..

Материал поступил в редакцию 10.04.2017 г.