Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт экономики, управления и природопользования
Кафедра экологии и природопользования

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ С.В. Верховец
подпись
« ____» _____ 20 __ г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

05.03.02 - экология и природопользование
05.03.06.02 - Природопользование

Исследование действия биогенных наночастиц ферригидрита по реакции кресс-салата

Руководитель _____ Е. Я. Мучкина
подпись, дата инициалы, фамилия

Выпускник _____ М. К. Гармашова
подпись, дата инициалы, фамилия

Нормоконтролер _____ И.Г. Гетте
подпись, дата инициалы, фамилия

Красноярск 2016

СОДЕРЖАНИЕ

Введение 3
1 Токсичность среды обитания: анализ и пути нейтрализации 6
1.1 Значение железа для жизнедеятельности растений 7
1.2 Характеристика наночастиц 10
1.3 Хемилюминесценция .....
2 Объект и методы исследования 22
2.1 Кресс-салат как тест объект 22
2.2 Хемилюминесцентный анализ 24
2.3 Методы экспериментального исследования 24
2.4 Статистические методы 26
3 Результаты исследований 28
3.1. Качество семян и развитие проростков тест культуры в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита 28
3.1.1 Энергия прорастания и всхожесть семян кресс-салата 28
3.1.2 Количественные характеристики проростков кресс-салата 33
3.2 Оценка действия биогенных наночастиц ферригидрита на растение кресс-салат методом индуцированной хемилюминесценции 36
3.2.1 Люминолзависимая хемилюминесценция 39
Заключение 49
Список используемых источников 50

ВВЕДЕНИЕ

Интенсивное использование нанотехнологий и наноматериалов, поиск новых способов синтеза наночастиц в настоящее время обусловлен уникальными характеристиками, присущими данным объектам, а, следовательно, широким спектром их возможного применения. Существующие технологии синтеза наночастиц в подавляющем большинстве основаны на физических и физико-химических методах обработки исходных материалов (реагентов и веществ). Для получения наночастиц успешно используют такие методы, как ультрафиолетовое облучение, аэрозольные технологии, литография, лазерная абляция, методы фотохимического восстановления, ультразвуковые методы. Отрицательная сторона использования этих методов – высокая стоимость и использование опасных химических веществ и неполярных растворителей, что ограничивает их применение, например, в клинической области [44].

Известны способы синтеза наночастиц золота, серебра, золото-серебряных сплавов, селена, теллура, платины, палладия, диоксида кремния, титана, циркония и т.д. с использованием биологических объектов: микроорганизмов, растительных экстрактов и ферментов, структур подобных ДНК, вирусов, водорослей, грибов, дрожжей и т.д. [46]. Преимущества микроорганизмов как потенциальных источников получения наночастиц заключаются в возможности управляемого наращивания их биомассы, а также получения нанокристаллитов с заданными свойствами.

Большое внимание уделяется биологическому синтезу железосодержащих наночастиц, что обусловлено биологической совместимостью данных объектов и возможностью управления внешним магнитным полем.

Обеспечение экологической безопасности населения в значимой степени может быть обеспечено анализом состояния сред жизни, включая почвенную и водную с учетом эколого-биогеохимических процессов. Разработка

мероприятий по нейтрализации факторов оказывающих негативное воздействие на функционирование экосистем так и на состояние сообществ [1].

Представление о том, что живые клетки человека и животных могут излучать слабый свет в ультрафиолетовой области спектра, было впервые сформулировано русским ученым Александром Гавриловичем Гурвичем и названо им митогенетиченским излучением [2].

Опыты Гурвича были основаны на регистрации излучения по его действию на биологические объекты, названные биологическими детекторами, к числу которых относятся почкующиеся дрожжи и делящиеся клетки. Использование чувствительного физического детектора, фотоумножителя, охлажденного твердой углекислотой или жидким азотом [2, 9], позволило обнаружить свечение проростков растений, а также клеток и тканей животных, измельченных кусочков тканей и изолированных митохондрий. Свечение всех этих объектов было названо сверхслабым свечением или ultraweak chemiluminescence [9]. Важным этапом в этой серии исследований были работы Роберта Эллана, открывшего в 1973 г. сверхслабое свечение стимулированных бактериями лейкоцитов крови человека и предложившего люминол в качестве активатора хемилюминесценции макрофагов [17].

Цель: Оценить свойства биогенных наночастиц ферригидрита по показателям всхожести, развития проростков и интенсивности хемилюминесцентной активности кресс-салата.

Задачи:

1. Определить энергию прорастания и всхожесть семян кресс-салата в экспериментальных условиях с применением биогенных наночастиц ферригидрита

2. Изучить линейно-весовые характеристики проростков кресс-салата в присутствии суспензии биогенных наночастиц ферригидрита

3. Исследовать хемилюминесцентную активность клеток проростков кресс-салата, как информационного показателя реакции организма на присутствие биогенных наночастиц ферригидрита

4. Выявить влияние биогенных наночастиц ферригидрита на показатели развития и состояния тест культуры

1. Токсичность среды обитания: анализ и пути нейтрализации

Развитие промышленности и наноиндустрии приводит к тому, что поток высокодисперсных частиц и количество тяжелых металлов, поступающих в окружающую среду, постоянно возрастает.

Многие из тяжелых металлов способны оказывать отрицательное влияние на растения, животных и человека, если концентрация их доступных форм превышает определенные пределы [1]. Влияние высокодисперсных частиц на живые организмы до настоящего времени изучено недостаточно, что подтверждается большим объемом часто противоречивых данных об их влиянии на природные компоненты [5].

В последнее время в качестве микроудобрений активно используют такую форму соединений как нанокристаллические порошки металлов [3]. Использование нанопорошков железа как биостимуляторов свидетельствует об их перспективности, так как железо является биогенным элементом и принимает участие в окислительных процессах, а также входит в состав ферментов [4].

Содержание железа в почвах варьируется в пределах 2-3 % от ее массы. Однако большая часть минеральных соединений железа находится в почвах в недоступной форме, так как железо образует наиболее прочные комплексы с гуминовыми кислотами [29].

Внесение железа в почву не приводит к ожидаемому биологическому эффекту, что объясняется его быстрым переходом в окислительную форму – недоступную для растений. В связи с выявленной биологической активностью соединений железа наиболее эффективными методами повышения урожайности культурных растений является фолиарная подкормка растворами органических (в основном хелатных соединений) или неорганических соединений железа. В настоящее время актуальным вопросом является использование различных форм железа (наноформа и ионная) для улучшения посевных качеств семян и повышения урожайности [42], а также снижения

количества других не биогенных элементов. Влияние высокодисперсных частиц на живые организмы до настоящего времени изучено не достаточно, что подтверждается большим объемом часто противоречивых данных об их влиянии на природные компоненты [37].

1.1 Значение железа для жизнедеятельности растений

Железо является одним из распространенных элементов как в среде обитания, так и в живых организмах. Его содержание в растениях достигает 0,08 %.

Механизм участия железа в окислительно-восстановительных процессах в клетках живых организмов — бактерий, низших и высших растений и животных — основан на его способности легко переходить из закисного состояния в окисное; железо входит в состав каталазы, цитохромов, цитохромоксидазы, а также активирует ряд других ферментов и ферментных процессов: дыхание, окислительно-восстановительные реакции, синтез углеводов и жирных кислот, нуклеотидов, биполярных молекул белков, гликогена, нуклеиновых кислот и т. д. [59].

Входя в состав истинных ферментов, железо в то же время участвует в ферментных реакциях различных биохимических систем и субстратов: аскорбиновой, индолилуксусной кислот, РНК, фенольных соединений и т. д. Ферредоксин, в состав которого входит железо, является переносчиком электронов, освобождающихся в первичном фотохимическом акте [43].

В группах истинных металлоэнзимов железо связано в строго стехиометрических соотношениях с различными химическими группировками апофермента или простетической порфириновой группой. Кроме геминов и хлорофиллов обнаружены у растений (а также у животных организмов и у бактерий) свободные порфирины, образующие непрочные соединения с белками. Образование их возможно путем распада геминовых

или других металлосодержащих соединений или непосредственно из предшественников в результате биосинтеза [31].

Многие анаэробные бактерии, не пользующиеся геминовыми окислительными биокатализаторами с протопорфириновой составной частью, содержат копропорфирин. Дрожжи и плесневые грибы также содержат свободные порфирины и их соли. При этом наблюдается корреляция между содержанием порфиринов у дрожжей, интенсивностью брожения и содержанием железа в питательной среде. Образование порфиринового кольца, а также гемов (комплексов порфиринов с железом) происходит у растений, животных, дрожжей и бактерий. Пути образования порфина и его производных — порфиринов, гемов и хлорофиллов у живых организмов полностью еще не изучены [33]. Железо металлопорфиринов образует рыхлые связи с газообразным кислородом и координационные соединения с аммонием, первичными аминами, гидразином, пиридином и производными имидазола. Железопорфириновые ферменты — каталаза, пероксидаза, цитохромоксидаза и цитохромы — имеют в составе простетических групп железопорфириновые комплексы (феррипротопорфирины и др.).

По механизму действия каталаза и пероксидаза относятся к группе гидропероксидаз, которые широко представлены в клетках животных, растении и микроорганизмов. Пероксидазой богаты высшие растения, особенно крестоцветные; у низших растений и микроорганизмов она встречается реже. Пероксидаза играет важную роль в процессах дыхания растении, легко вступает в реакции с различными органическими перекисями и полифенолами [10]. Цитохром-с-пероксидаза дрожжей, бактерий и некоторых растений окисляет восстановленные формы цитохромов и отличается низким содержанием гематина (около 0,3%). Активность цитохромоксидазы, каталазы и пероксидазы в растениях зависит ог содержания железа и марганца в питательной среде. Добавление к среде, содержащей железо, возрастающего количества марганца повышает

активность всех ферментов. Содержание хлорофилла и желтых пигментов, а также фотохимическая активность хлорофилла изменялись в том же направлении, что и активность всех железосодержащих ферментов, кроме цитохромоксидазы [38].

Железо активной группы пероксидазы в отличие от металла, цитохромов и цитохромоксидазы не изменяет своей валентности на всех стадиях катализа, осуществляемого пероксидазой. Оставаясь трехвалентным, железо стабилизирует определенную формацию белковой молекулы, лишенную триптофана и оксипролина, причем каталитическое действие фермента усиливается при наличии геминного железа [8].

Цитохромы, участвующие в дыхании, являются железопротеидами. Они широко распространены в составе тканей животных, зеленых растений, грибов и бактерий. Спектр цитохромов близок к спектру гемоглобина и миоглобина. Цитохромы встречаются в восстановленной и окисленной форме и участвуют в переносе электронов от пиридиннуклеотидов и флавопротеидов к цитохромоксидазе и дальше к молекулярному кислороду. Перенос электронов катализируется цитохромоксидазой. Цигохромная система растений функционирует в связи с полифенолоксидазной системой [10].

М.Я. Школьник и Н.А. Макарова[59] пришли к выводу, что хлороз у растений льна может быть связан в большей степени с наличием меди, чем с недостатком железа. Вопрос об антагонизме железа и меди, железа и марганца, железа и молибдена и других металлов обсуждался на симпозиумах корневого и почвенного питания растений на Ротамстедской опытной станции в 1950 г. и в Анкаре в 1965 г. [55].

Взаимодействие железа и меди, железа и марганца, железа и цинка и других металлов оказывает как непосредственное влияние на поступление металлов в ткани растений, так и косвенное, изменяя все жизненные процессы почвенных железобактерий и их многочисленных конкурентов [39]. В обоих случаях возможны механизмы конкурентного и синергичного

взаимовлияния металлов. Комплексные соединения ионов железа, меди, цинка, марганца, молибдена и других металлов с одним или несколькими лигандами представлены максимальным числом наиболее идентифицированных ферментов, в которых металлы создают формации белковых молекул, изменяют электронную структуру субстрата, активируют ферменты, стабилизируют промежуточные соединения и сходные их функции.

В этих взаимоотношениях медь оказывает в большей степени косвенное, чем непосредственное влияние на поступление железа в ткани растений. Ее комплексные соединения активно используются почвенными грибами и бактериями, особенно микроорганизмами, которые способствуют окислению двухвалентного марганца и железа [60]. Отмечено также, что соединения меди для многих микроорганизмов токсичны даже в минимальных концентрациях. Кроме того, в почве встречаются микроорганизмы, накапливающие медь до рудных концентраций. Различные взаимоотношения этих микроорганизмов на перегнойно-карбонатных и торфяных почвах оказывает влияние на поступление меди и железа в растения и на конкретное синергичное взаимовлияние указанных металлов как для растений, так и для микроорганизмов [1]. В связи с этим можно объяснить и кажущиеся противоречивыми факты о сложности взаимоотношений элементов при их поступлении в растение, различном количестве доступных форм элемента в почве и концентрации железа и его антагонистов. Эти соотношения различны у бобовых, злаковых, пасленовых и крестоцветных растений [6].

1.2 Характеристика наночастиц

Получение наночастиц возможно несколькими путями, например химическим, полученным действием гидрата аммиака на водный раствор смеси

солей хлорида железа (III) и сульфата железа (II) при интенсивном перемешивании [27].

Таким образом, получали растворы с концентрацией по железу от 2 г/л до 0,125 г/л. Растворы сульфатов железа (II) и (III) готовили аналогично.

Наночастицы железа во всех исследуемых концентрациях стимулировали развитие корневой системы и побегов кресс-салата [18].

В связи с интенсивным развитием нанотехнологий, внедрением наноматериалов в процессы производства и потребления расширяется область применения наночастиц с различными свойствами. Применяемые наноматериалы поступают в окружающую среду и становятся частью накопления экологических факторов, определяющих развитие организма и функционирования биосистем различного уровня. В настоящий период наночастицы могут иметь биогенное и абиогенное происхождение.

Актуальным вопросом поиска развития и применения новых технологий является изучение наноматериалов, нанопроцессов [34]. Исследования в данной области проводятся в различных отрослях знаний (нанохимии, физики нанопроцессов и др.) с целью повышения эффективности ряда технологий в том числе при защите окружающей среды и производстве жизненно необходимых продуктов (пищевых и кормовых объектов, лекарственных средств) [18, 35]. Наночастицы обнаруженные в природных средах (почве, воде) разрабатываются и развиваются методы и технологии синтеза наночастиц для различных целей. Установлен механизм и условия образования биогенных наночастиц. Например наночастицы ферригидрита, имеющие биогенное происхождение описаны в работах В. П. Ладыгиной и соавторов [44, 45]. Авторами был предложен метод синтеза железосодержащих наночастиц путем биоминерализации органических соединений железа металл-редуцирующими микроорганизмами. Было показано, что наночастицы, образующиеся в результате культивирования микроорганизмов *Klebsiella oxytoca* и других бактерий, являются ферригидритом $Fe_2O_3 \cdot 2FeOOH \cdot 2.5H_2O$, размеры этих частиц 2-5 нм. В процессе культивирования в кристаллохимической структуре

ферригидрита происходят процессы упорядочения лигандов. Ферригидрит представляет собой чередующиеся пустые, сдвоенные и одиночные слои ионов трехвалентного железа, находящихся в кислородных (или ОН) октаэдрах [47].

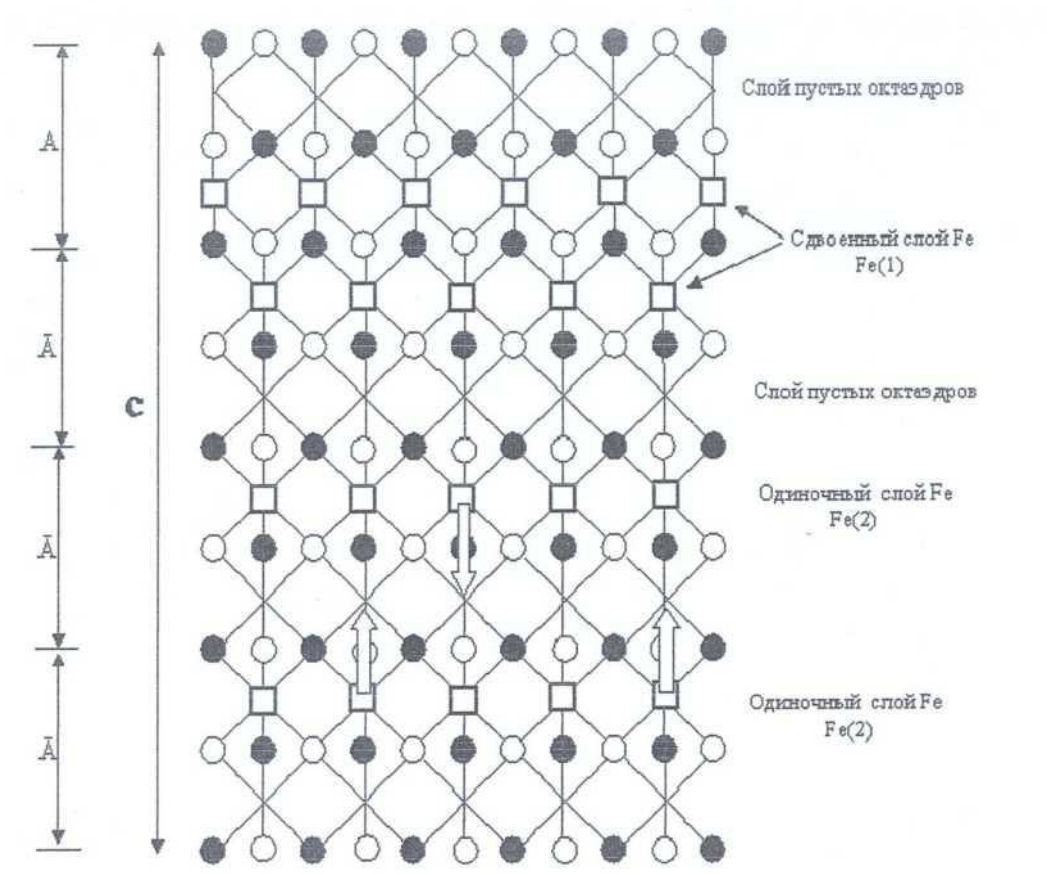


Рисунок 1 – Схематичное представление идеализированной структуры бактериального ферригидрита по данным разработчиков [13].

Наночастицы ферригидрита успешно были использованы для нейтрализации нефтепродуктов при ремедиации почвенных субстратов [4].

Уникальные исследования, проведенные инженером по защите окружающей среды Чжан Вейсянем из Университета Лехай (США), продемонстрировали потенциал наномасштабного железного порошка, способного очищать почву и грунтовые воды, загрязненные промышленными веществами [62].

В США и других странах имеется огромное количество загрязненных в результате промышленной деятельности регионов, подземных хранилищ вредных веществ, заброшенных шахт и горных выработок. Железо обладает способностью легко окисляться и образовывать ржавчину. Если это окисление происходит в присутствии таких опасных загрязняющих веществ, как трихлорэтилен, тетрахлорид углерода, диоксины или полихлорированные дифенилы (ПХД), то их сложные молекулы распадаются на более простые и менее токсичные углеродные компоненты [58].

Аналогичное явление наблюдается, когда окисление железа происходит в присутствии таких опасных тяжелых металлов, как свинец, никель, ртуть и даже уран. Тогда эти металлы образуют нерастворимые формы, которые оседают в почве и не переносятся по пищевой цепочке (следовательно, их вредное влияние на окружающую среду уменьшается).

Поскольку железо не обладает токсичным эффектом и в большом количестве присутствует в горных породах, почве и воде, многие компании в настоящее время начали применять железный порошок для очистки своих промышленных отходов перед выбросом их в окружающую среду [7]. Эта технология прекрасно подходит для новых промышленных отходов, но ученых беспокоит ситуация и со старыми отходами. В этом деле им могут помочь наночастицы железа [7, 58].

Наночастицы железа в 10-1000 раз активнее обычных макроскопических частиц. Обладая меньшим размером и большей активной поверхностью, наночастицы могут легко проникнуть в центр загрязненной зоны [48]. Они легко переносятся вместе с грунтовыми водами и попутно очищают все окружающее пространство.

Нанотехнологии не только самым тесным образом связаны с проблемами окружающей среды и энергетики, но и, возможно, приведут к новым решениям весьма сложных проблем [49, 63].

На свойства наночастиц железа не влияют кислотность, температура или содержание питательных веществ в почве. Крошечные размеры (1-100 нм, что в

10-1000 раз меньше бактерии) позволяют наночастицам железа легко и быстро перемещаться между частицами почвы. Лабораторные и полевые испытания показали, что благодаря наночастицам железа уровни загрязнения возле места внесения значительно падают уже за 1-2 дня и снижаются практически до безопасного уровня за несколько недель. Результаты этих исследований показывают, что наночастицы железа остаются активными в течение 4-6 недель, то есть до тех пор, пока не распределятся в грунтовых водах до достижения естественной концентрации железа в природе [30].

Этот тип нанотехнологической инновации может быстро улучшить ситуацию в загрязненной окружающей среде. Более того, он может вдохновить других исследователей на поиски новых способов очистки от загрязняющих веществ. Следует отметить, что метод Чжана гораздо дешевле и эффективнее, чем раскопки загрязненной почвы и ее полная переработка обычными методами [54].

Железо входит в состав растения в количестве 0,08%. Оно поступает в растения в виде Fe3+, а транспортируется в листья по ксилеме в виде цитрата железа (III). Роль железа в большинстве случаев связана с его способностью переходить из окисленной формы (Fe3+) в восстановленную (Fe2+) и обратно. Наножелезо обладает высокой степенью биодоступности, что свидетельствует о его альтернативном использовании на живых системах [34, 61].

В настоящее время накоплен обширный материал о содержании и распределении химических элементов в почвах, растениях, породах и других объектах окружающей среды. Поведение химических элементов в почвах отличается сложным характером и зависит от многих факторов: свойств элементов и уровней их содержания, химических и физических свойств почв, а также от факторов окружающей среды и их воздействия на почвенно-геохимические процессы. Особенно важно изучение влияния факторов среды на трансформацию и миграцию микроэлементов в почвах в условиях повышенного их поступления с техногенными потоками вследствие современного загрязнения окружающей среды [6].

В результате жизнедеятельности и отмирания растений, животных и микроорганизмов в почву поступают разнообразные экзо- и эндоферменты. Подвергаясь иммобилизации, ферменты в почве стабилизируются и в течение длительного времени сохраняют свою активность [21]. В почве ферменты участвуют в важнейших биохимических процессах: синтезе и распаде гумуса, гидролизе органических соединений, остатков высших растений и микроорганизмов, в окислительно-восстановительных процессах и т.д.[52].

Углеводы и близкие к ним вещества в почвенном органическом веществе, микроорганизмах и растениях содержатся в значительном количестве. Из углеводов в почве обнаружены моно-, ди- и полисахариды (целлюлозы, гемицеллюлозы, крахмал и др.), поступающие туда главным образом в виде растительных остатков (до 60% массы растительных остатков составляют углеводы) [41]. В биохимическом превращении каждого углевода участвует специфический фермент или группа ферментов. Инвертаза катализирует реакцию гидролиза сахарозы на глюкозу и фруктозу, которые оказывают влияние на окислительно-восстановительные процессы железа [5].

Железо входит в состав каталитических центров многих окислительно-восстановительных ферментов. Развитие окислительно-восстановительных (ОВ) процессов в почве может оказывать значительное влияние на подвижность микроэлементов, вызывая образование комплексных соединений различной прочности с оксидами железа. В наибольшей мере таким превращениям подвержены элементы с переменной валентностью, к которым относятся элементы семейства железа [16].

Суспензию наночастиц железа и магнетита, а также растворы сульфаты железа (II) и сульфата железа (III) с концентрациями по железу 0,1 г/л готовили, растворяя определенную навеску в дистиллированной воде и обрабатывая их ультразвуком в течении 15 минут [26].

Снижение содержания зеленых пигментов обусловлено главным образом торможением синтеза предшественника хлорофилла и порфириновых соединений – аминолевулиновой кислоты. Железодефицитный стресс

генерирует активные формы кислорода (АФК), которые деформируют пигменты, инициируют перекисное окисление липидов (ПОЛ) и дезинтеграциию мембран [11].

В последнее время в различных сферах деятельности широко используются уникальные свойства железосодержащих наноматериалов и образуемых ими нанокластеров [24]. Малый размер частиц (от 1 до 100 нм) и большая площадь поверхности определяют физико-химические свойства наночастиц по сравнению с их макроскопическими формами. Так, наночастицы металлов размером менее 10 нм обладают избыточной энергией и высокой реакционной способностью, а наночастицы размером около 1 нм вступают в процессы агрегации и в реакции с другими химическими соединениями [44]. Известно, что метаболическое проникновение наночастиц в растительную клетку ограничивается диаметром пор клеточной стенки (от 5 до 20 нм). Однако проникновение НЧ может происходить также с помощью эндоцитоза, встроенных тренспортных белков-переносчиков или через ионные каналы. В цитоплазме наночастицы могут связываться с различными органеллами и приводить к изменению физиологических и внутриклеточных функций растений [50].

Развитие промышленности и наноиндустрии приводит к тому, что поток высокодисперсных частиц и количество тяжелых металлов, поступающих в окружающую среду, постоянно возрастает.

Многие из тяжелых металлов способны оказывать отрицательное влияние на растения, животных и человека, если концентрация их доступных форм превышает определенные пределы. Влияние высокодисперсных частиц на живые организмы до настоящего времени изучено недостаточно, что подтверждается большим объемом часто противоречивых данных об их влиянии на природные компоненты [34].

Железо является биогенным элементом, так как принимает участие в окислительных процессах и входит в состав ферментов. Содержание железа в почвах варьируется в пределах 2-3 % от ее массы. Однако большая часть

минеральных соединений железа находится в почвах в недоступной форме, так как железо образует наиболее прочные комплексы с гуминовыми кислотами. Этот процесс может сопровождаться высвобождением других тяжелых металлов [56].

В настоящее время актуальным вопросом является использование различных форм железа (наноформа и ионная) для улучшения посевных качеств семян и повышения урожайности и снижения количества других не биогенных элементов.

1.3 Хемилюминесценция

Хемилюминесценция, т. е. химическое свечение возникает за счет энергии химической реакции. Исследование процессов хемилюминесценции имеет большое значение так как:

1 - при этом процессе происходит прямое преобразование химической энергии в энергию электромагнитных колебаний (в свет);

2 - при хемилюминесценции реакция информирует о себе;

3 - в ряде случаев хемилюминесценция является надежным способом изучения богатых энергией (возбужденных) молекул и атомов — частиц, играющих большую роль в ряде важных процессов, например, в процессах, идущих под действием радиоактивного излучения солнечной радиации в верхних слоях атмосферы фотохимических реакциях в том числе фотосинтезе;

4 - свечение, возникающее при биологических процессах свидетельствует о сложнейших реакциях, идущих в организме;

5 - энергию, выделившуюся в химической реакции, можно использовать для получения эффекта вынужденного когерентного излучения в квантовых генераторах - химических лазерах.

При хемилюминесценции возбужденные молекулы образуются сразу, минуя стадию нагревания: это — «холодный» свет [15, 20].

В реакциях водорода с галогенами «активными» частицами служат атомы (H, Вг, Cl, F и т.д.). При иных реакциях эту функцию выполняют целые группы атомов, обладающие свободной валентностью (свободные радикалы), в том числе ·OH, HOO·, CH3· (точкой обозначают свободную валентность). Эти реакции называются радикальными [15].

На рисунке 2 показана схема возникновения хемилюминесценции в элементарной реакции молекулы А—В с атомом С (пример: реакция молекулы хлора с атомом водорода). В начальном состоянии атом С изолирован, а атомы А и В связаны в молекулу. При образовании промежуточного комплекса А···В···С связь А—В ослабляется, одновременно возникает связь В—С; этот процесс идет с затратой энергии (энергия активации). Комплекс перестраивается, связь В—С укрепляется, а связь А—В разрывается полностью, выделяется энергия, эквивалентная сумме энергии активации и теплового эффекта. В случае, если энергия теряется сразу, передается другим молекулам при столкновениях, выходит невозбужденный продукт В—С. Часть энергии может быть удержана как энергия возбуждения продукта (состояние ВС*) и затем отдана в виде кванта света [9].

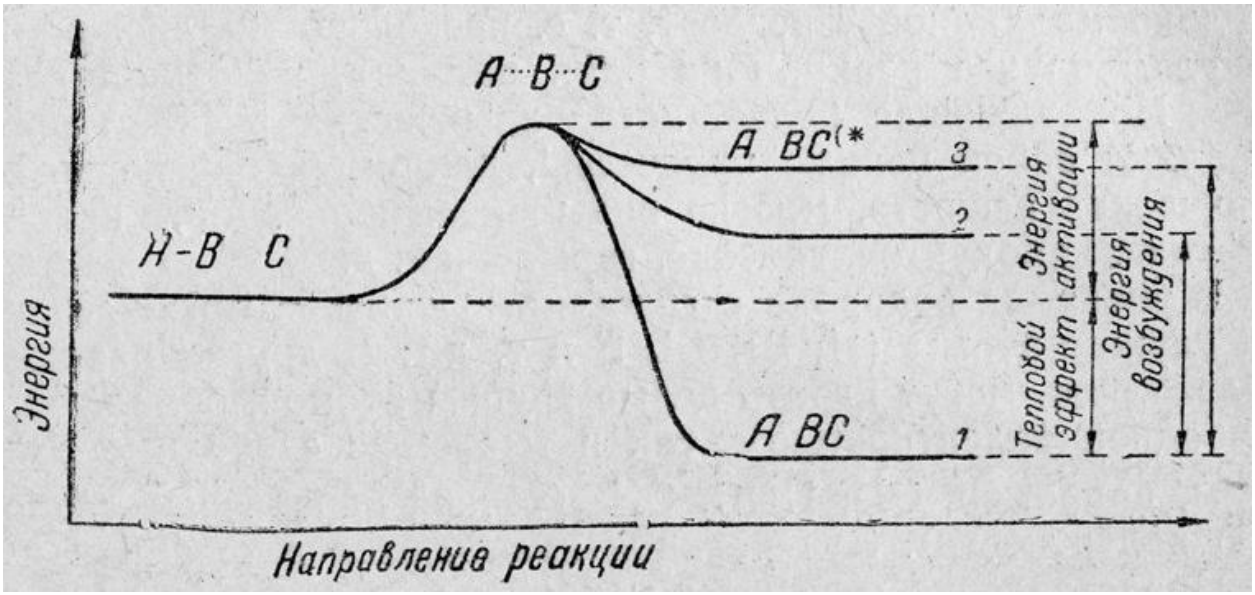


Рисунок 2 – Схема процесса хемилюминесценции

Процесс хемилюминесценции можно разделить, на две стадии. Стадия возбуждения — образование в химической реакции богатой энергией частицы (продукта реакции P) в том состоянии (P*) когда возможен излучательный переход и стадия тушения.

Окисление люминола. Впервые свечение люминола наблюдал немецкий химик Альбрехт в 1928 г. В силу большой яркости свечения люминола возникает необходимости в использовании светосильной и высокочувствительной аппаратуры, и могут быть применены обычные фотометры и спектральные приборы [9].

Свечение усиливается при добавлении веществ, распадающихся на свободные радикалы, — инициаторов. Напротив, введение соединений, перехватывающих радикалы, — ингибиторов — ослабляет хемилюминесценцию. Эти факты указывают на возможное участие свободных радикалов в реакции [13]. С этой точки зрения катализатор, необходимый для свечения, способствует разложению перекиси водорода или же какого-либо промежуточного реагента на радикалы.

Окисление люцигенина. Для хемилюминесценции люцигенина установлено, что эмиттером служит N-метилакридон: квантовый выход хемилюминесценции составляет 0,011—0,020 фотона на одну молекулу N-метилакридона.

Прямое определение времени жизни возбужденного состояния и квантового выхода излучения при хемилюминесценции невозможно, но возможно применить косвенные методы, основанные на тушении хемилюминесценции посторонними веществами и переносе энергии возбуждения на люминофоры-активаторы [9].

Хемилюминесценция в окислительных реакциях надежно измеряется современными фотоэлектронными устройствами, что позволяет получить ценную количественную информацию о столь важных процессах в биообъектах [41].

Применение хемилюминесценции возможно и для анамнеза сред жизни на раннем этапе исследования жидкофазной хемилюминесценции [28]. Были предложены разнообразные области применения свечения люминола, люцигенина и лофина.

Для свечения люминола необходимы перекись водорода и катализатор (например, медь). При уменьшении концентрации любого из указанных веществ интенсивность уменьшается, и это может служить основой количественного анализа данного соединения. Кроме того, можно определять и те соединения, которые реагируют с люминолом, или с перекисью водорода, или с катализатором [9,12]. В частности, по данным А. А. Пономаренко, хемилюминесцентным методом могут быть определены такие соединения, как перекись водорода, хлорноватистокислый натрий, медь, ацетальдегид, глюкоза, витамин С, фенол, пирокатехин, резорцин, пирогаллол, анилин, нитроанилины, метиловый, этиловый, пропиловый спирты и т. д. [32].

Пользуясь хемилюминесцентным методом, можно определять ничтожные концентрации примесей некоторых металлов (например, 10-11 *г/г* железа) в других металлах и сплавах [12].

Для изучения биологических объектов хемилюминесценцию применяют по отношению к организмам человека, животных, бактерий, грибов, растений для измерения содержания АТФ, иммунолюминесцентный анализ, оценка функциональной активности иммунокомпетентных клеток, исследование состояния лейкоцитов, оценка степени очищения организма при детоксикации, определение микроколичеств АТФ, НАДН и др, раннее выявление негативного действия факторов среды, оценка степени патогенности внешних воздействий, биоэкологический мониторинг [14, 22].

Эти реакции представляют собой часть единого механизма окисления. Поэтому интенсивность хемилюминесценции оказывается закономерно связанной с кинетикой брутто-реакции. На этой основе были созданы хемилюминесцентные методы измерения количественных характеристик реакций инициированного окисления.

Возможность получения ценной количественной информации показывает, что хемилюминесценция является эффективным физическим методом исследования кинетики реакций. Величиной, измеряемой в опытах, является интенсивность света [9].

В окислительных реакциях хемилюминесценция связана с рекомбинацией свободных радикалов [15].

2. Объект и методы исследования

2.1 Кресс-салат как тест-объект

Царство Растения

Отдел: Цветковые растения

Класс: Двудольные

Порядок: Капустоцветные

Семейство: Капустные

Род: Клоповник

Вид: Клоповник посевной

Кресс-салат — скороспелое холодостойкое растение семейства Капустные. Содержит много витаминов (мг/100 г сырой массы): аскорбиновая кислота — до 115; рутин — 80; каротин — до 4. Включает также соли йода, калия, железа. Тонизирующие свойства кресс-салата обуславливают его использование как лекарственного. В пищу употребляют сырые листья по мере отрастания. Эта фаза наступает через 15—25 суток после появления всходов [23]. Оптимальные сроки сева в открытый грунт — ранняя весна или вторая половина лета. В жаркую погоду растения выбрасывают цветонос, меняются вкусовые качества.

Растение сравнительно нетребовательно к почвенному плодородию, для него пригодны любые участки. Необходим постоянный полив — при пересушивании появляются цветочные стебли, листья грубеют и мельчают. Повреждается кресс-салат теми же вредителями, что редис и капуста. Известны сорта: Курчавый кресс, Обыкновенный кресс, Садовый кресс, Узколистный, Широколистный [5].

Предметом исследования явилось изучение прорастания и развития семян в экспериментальных условиях при действии биогенных наночастиц

ферригидрита. Учет прорастания и развития семян проводили по показателю энергии прорастания и всхожести в соответствии с ГОСТ 12038-84 [19].

В работе использовали семена кресс-салата сорта «весенний», для которого характерны все признаки данной культуры: холодостойкий сорт с высокой скоростью роста, период хозяйственной годности всходов, округлые листья светло зеленого цвета, высота розетки 8-10 см, диаметром до 20 см. Выращивают в открытом и закрытом грунте и в домашних условиях.

Кресс-салат в следствии высокой скорости роста и дружности развития семян является доступным и простым в практическом применении тест объектом [18]. По уровню энергии прорастания и всхожести семян судят о степени токсичности среды (водной, почвенной), также учитывают наличие уродств, искривлений отдельных особей.

Данные по исследованию кресс-салата, как тест-объекта приведены в работах М. Е. Баранова [3] и С. В. Хижняка [53] и других исследователей.

2.2 Хемилюминесцентный анализ

Хемилюминесцентный анализ проводили на приборе «Хемилюминометр CL – 3604 – ПЭВМ» (СКТБ «Наука», Красноярск). Навеску гомогената разных частей кресс-салата 10 мг растирали в 2 мл трис-HCl буфера. Гомогенат центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 минут. Реакционную смесь, содержащую 2 мл 5х 10-4 М раствора люминола в 0,1 М трис-HCl буфере, pH 7,4 и 200 мкл исследуемого образца термостатировали при 25 °С. В кювету с реакционной смесью вносили 450 мкл 0,35 М раствора H2O2. Регистрировали максимальную быструю вспышку (Imax). Расчет светосуммы хемилюминесценции проводили с учетом фонового свечения и выражали в относительных единицах (количество импульсов в секунду). Длительность записи ХЛ-кинетики (не менее трёх повторностей) составляла 60 минут. При оценке кинетограмм использовали такие информативные параметры, как амплитуду ХЛ-реакции (*I*max, имп./с); время достижения максимума (*T*max,

мин); суммарное количество квантов за время наблюдения, или светосумму (*S*, млн имп.) [40]. По степени достоверного снижения или повышения продукции свободных радикалов оценивали окислительно-восстановительный статус.

Статистическую обработку данных проводили по критерию Стьюдента. Корреляционную зависимость показателей биомониторинга оценивали методом ранговой корреляции Спирмена. Показатели величины ХЛ-ответа в точке относительного контроля достоверно ниже показателей на других исследуемых площадках.

Активизация процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) является универсальной реакцией растительной клетки на экстремальные условия внешней среды. Выявлена корреляционная взаимосвязь между уровнем содержания пероксидных группировок, способность к образованию свободных радикалов[8].

Спонтанная хемилюминесценция (СХЛ) тканей возникает, главным образом, в процессе свободнорадикального окисления липидов и липопротеидов. Благодаря присутствию антиоксидантов (АО) в тканях процесс свободнорадикального окисления удерживается на относительно низком стационарном уровне [15].

2.3 Методы экспериментального исследования

Изучение свойств биогенных наночастиц ферригидрита проводили в процессе экспериментальных работ в лабораторных условиях с оцениванием показателей тест объекта (кресс-салата). В эксперименте имелось 5 вариантов:

1. Контроль с отстойной водопроводной водой для влажной камеры при проращивании семян
2. Суспензия с концентрацией железа партии М 4,2 мг/л
3. Суспензия с концентрацией железа партии М 8,4 мг/л
4. Суспензия с концентрацией железа партии Ж 5,35 мг/л
5. Суспензия с концентрацией железа партии Ж 10,7 мг/л

Период проращивания семян составил 12 суток. Работа проводилась в ряд этапов (таблица 1).

Таблица 1 – Этапы экспериментальных работ по оценке действия биогенных наночастиц ферригидрита на тест культуру

Замачивание семян 1 сутки	
Проращивание во влажной камере 3 суток	Устанавливали энергию прорастания
Проращивание во влажной камере 5 суток	Устанавливали всхожесть
Развитие проростков	Устанавливали длину и массу на 7 и 12 сутки
	Измеряли хемилюминесцентную активность

Для изучения влияния биогенных наночастиц ферригидрита были использованы две партии суспензии М и Ж с содержанием частиц М 4,2 и 8,4 мг/л и частицами Ж 5,35 и 10,7 мг/л ферригидрита. Размеры наночастиц составляют 2-5 нм, pH жидкости 7,0. Суспензия прозрачная, не имеет запаха, окрашена в красно-коричневый цвет. Анализируемую суспензию биогенных наночастиц ферригидрита получают при экспанировании бактериальной культуры *Klebsiella oxytoca* в экспериментальных условиях. Эксперимент проводили в трех повторностях.

Суспензии данной концентрации были получены при приготовлении из исходного концентрата частиц М и частиц Ж, предоставленного главным научным сотрудником международного научного центра исследования экстремальных состояний организма Сибирского отделения Российской академии наук, доктора физико-математических наук, Юрия Леонидовича Гуревича.

При проращивании семян кресс-салата, как тест культуры применяли стандартные показатели. Энергию прорастания и всхожесть определяли в соответствии с ГОСТ 12038-84 [19]. Длину растения определяли линейкой, массу на весах – Госметр ВЛ-210.

Для проращивания семян использовали влажные камеры (пластиковые контейнеры объемом 200 мл). Влажную среду в каждом варианте опыта создавали с применением отстойной водопроводной воды суспензией наночастиц ферригидрита. Дополнительно исследовали вариант с применением во влажной камере целлюлозного фильтра.

2.4 Статистические методы

Статистический анализ данных выполнен с использованием Microsoft Office Excel 2007. Описание количественных признаков производилось с использованием средних арифметических и среднеквадратичных (стандартных) ошибок среднего (M±m, где M - среднее, а m - ошибка среднего).

Сравнительную оценку рядов данных в контрольном и опытных вариантах проводились по критерию Стьюдента. Рассчет которого вели в соответствии с указаниями Шилиной Н. Г., Попельницкой И. М. и др. 2009г [57].

Также применили точный критерий Фишера для таблице 2*2 при анализе энергии прорастания и всхожести семян.

Точный критерий Фишера для таблиц 2*2 применяется, когда:

1. Признаки качественные
2. У признака только две градации
3. Есть только два варианта опыта

Таблица 2 – Точный критерий Фишера для таблиц 2*2

	проросла	не проросла
Контроль	-	-
Опыт	Сорт 1	Сорт 2

В таких случаях это самый точный статистический критерий. В случаях, если у признака больше двух градаций и/или вариантов эксперимента больше двух применяется анализ таблиц сопряженности по критерию. Расчеты вели с использованием on-line калькулятора [36].

3. Результаты исследований

3.1. Качество семян и развитие проростков тест культуры в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита

Применение нанотехнологий в экологии имело бы большую роль, поскольку помогло бы значительно снизить загрязнение окружающей среды. Уже имеется немало достижений в нанотехнологиях, которые помогают уменьшить вредное влияние на окружающую среду: например, эта наука даёт новые возможности переработки мусора, очистки воды, определения ртути и так далее. Дальнейшие исследования дадут новые результаты, а, значит, и новые возможности.

3.1.1 Энергия прорастания и всхожесть семян кресс-салата

Проращивание семян тест культуры – кресс-салата в экспериментальных условиях с использованием в качестве жидкой среды суспензию биогенных наночастиц ферригидрита показало следующие результаты (таблица 2, рисунок 3).

Таблица 2 – Энергия прорастания (%) и всхожесть (%) семян кресс-салата в экспериментальных условиях с применением биогенных наночастиц ферригидрита в различных концентрациях с подложкой в виде целлюлозного фильтра

Вариант опыта	Энергия прорастания		Всхожесть	
	min max	x±m	min max	x±m
Контроль				
Ж 5,35 мг/л				
Ж 10,7 мг/л				
М 4,2 мг/л				
М 8,4 мг/л				

Энергия прорастания семян кресс-салата в контрольном варианте составила 95 %. Суспензия наночастиц ферригидрита партии Ж с концентрацией 5,35 мг/л была на уровне 97 %, а частицы с концентрацией 10,7 мг/л на уровне 92 %. Частицы партии М с концентрациями 4,2 мг/л и 8,4 мг/л 92-93 %, что зафиксировали через 3 суток после начала эксперимента. Всхожесть семян кресс-салата в контроле была на уровне 95 %, в опытном варианте частицы партии Ж в обоих концентрациях составляли 98 % и 93 %, а в партии М около 95 %.

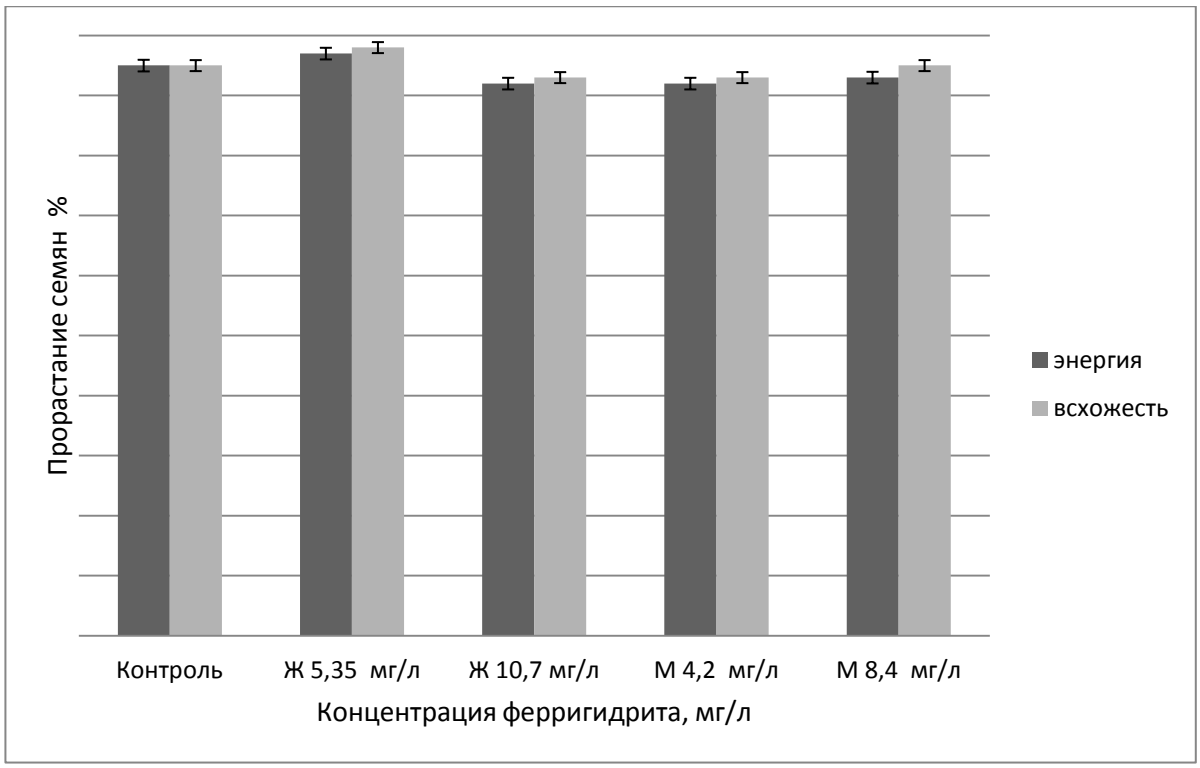


Рисунок 3 – Энергия прорастания (%) и всхожесть (%) семян кресс-салата в экспериментальных условиях с применением биогенных наночастиц ферригидрита в различных концентрациях с подложкой в виде целлюлозного фильтра

Для уточнения сравнительных оценок результатов энергия прорастания и всхожесть в контрольном и опытных вариантах использовали критерий Фишера (таблица 3).

Таблица 3 – Оценка влияния биогенных наночастиц ферригидрита на энергию прорастания и всхожесть семян кресс-салата с использованием точного критерия Фищера

Вариант опыта	Энергия прорастания, %	Значимость различий с контролем, p	Всхожесть, %	Значимость различий с контролем, p
Контроль		Нет		Нет
М 4,2 мг/л		Нет		Нет
М 8,4 мг/л		Нет		Нет
Ж 5,35 мг/л		Нет		Нет
Ж 10,7 мг/л		Нет		Нет

Применения точного критерия Фишера не выявило отличий в контрольном и опытном варианте.

Таблица 4 – Энергия прорастания (%) и всхожесть (%) семян кресс-салата в экспериментальных условиях с применением биогенных наночастиц ферригидрита в различных концентрациях без подложки в виде целлюлозного фильтра

Вариант опыта	Энергия прорастания			Всхожесть		
	min	max	x±m	min	max	x±m
Контроль						
Ж 5,35 мг/л						
Ж 10,7 мг/л						
М 4,2 мг/л						
М 8,4 мг/л						

Энергия прорастания семян кресс-салата в контрольном варианте составила 87 %. Суспензия наночастиц ферригидрита партии Ж с концентрацией 5,35 мг/л и 10,7 мг/л составляла 88 % и 92 % соответственно. Частицы партии М с концентрациями 4,2 мг/л и 8,4 мг/л 88 % и 85 %, что не отличается достоверно от контроля. Всхожесть семян кресс-салата в контроле была на уровне 93 %, в опытном варианте частицы партии Ж в обоих концентрациях составляли 90 % и 95 %, а в партии М около 88 %.

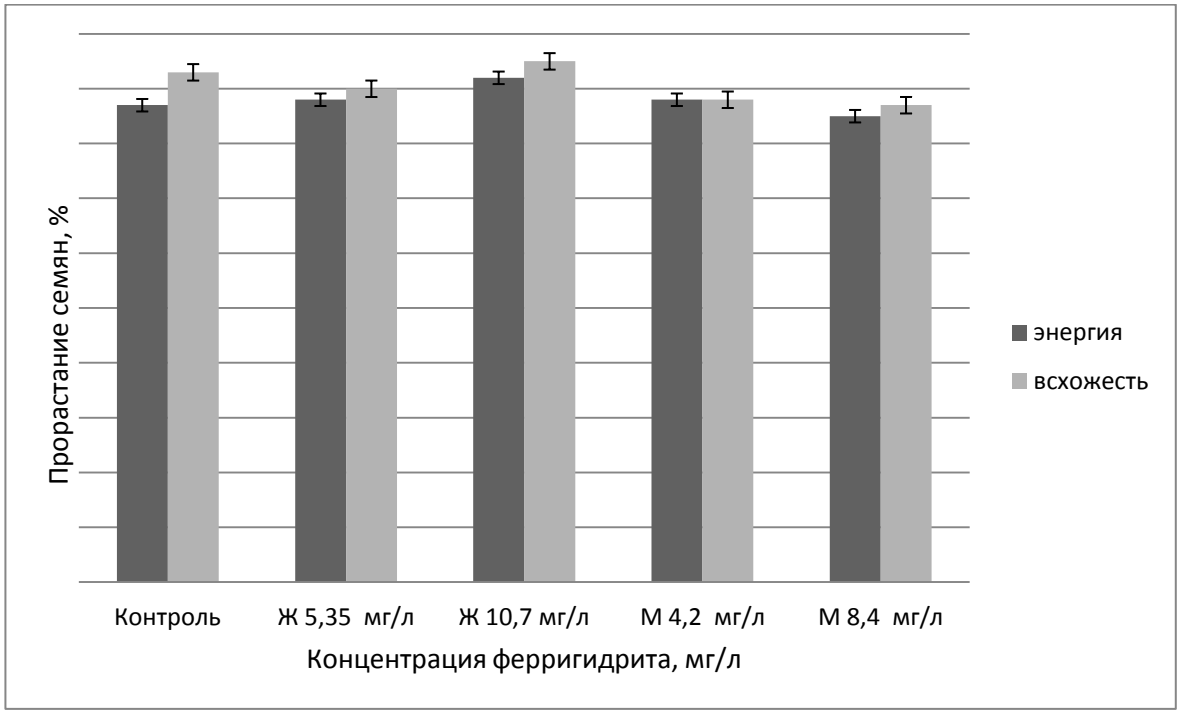


Рисунок 4 – Энергия прорастания (%) и всхожесть (%) семян кресс-салата в экспериментальных условиях с применением биогенных наночастиц ферригидрита в различных концентрациях без подложки в виде целлюлозного фильтра

Таблица 5 – Оценка влияния биогенных наночастиц ферригидрита на энергию прорастания и всхожесть семян кресс-салата с использованием точного критерия Фищера

Вариант опыта	Энергия прорастания, %	Значимость различий с контролем, p	Всхожесть, %	Значимость различий с контролем, p
Контроль		Нет		Нет
М 4,2 мг/л		Нет		Нет
М 8,4 мг/л		Нет		Нет
Ж 5,35 мг/л		Нет		Нет
Ж 10,7 мг/л		Нет		Нет

Применения точного критерия Фишера не выявило достоверных отличий в контрольном и опытном варианте.

Таким образом анализ экспериментальных данных показал схожие характеристики энергии прорастания и всхожесть семян кресс-салата в условиях контроля и присутствия наночастиц ферригидрита в концентрации партии Ж 5,35 мг/л и 10,7 мг/л, а также в партии М с концентрациями 4,2 мг/л и 8,4 мг/л. Это указывает на отсутствие эффекта угнетения развития кресс-салата наночастиц ферригидрита. Высокие уровни энергии прорастания и всхожести семян кресс-салата в опытных вариантах и контроле не позволяют рассмотреть эффект стимулирования.

3.1.2 Количественные характеристики проростков кресс-салата

Высокий уровень показателей энергии прорастания и всхожести семян кресс-салата, как тест культуры в опытных экспериментальных вариантах свидетельствует о высоком уровне качества семян. Дальнейшее развитие

проростков определяется не только потенциалом семенного материала, но и его реализации в конкретных экологических условиях [24].

Оценить приемлемость условий среды возможно по размерным характеристикам организма таким как линейные размеры и массы отдельных особей.

Изучение длины проростков при экспанировании в контрольных условиях и в присутствии различных концентраций ферригидрита показало схожие величины, как длины надземной части – стебель и лист (таблица 6, рисунок 5) и общей длины растения (таблица 7, рисунок 6).

Таблица 6 – Длина надземной части (см) проростков кресс-салата в экспериментальных условиях в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита

	Длина надземной части, см			
Вариант опыта	7 сутки		12 сутки	
	min max	x±m	min max	x±m
Контроль				
М 4,2 мг/л				
М 8,4 мг/л				
Ж 5,35 мг/л				
Ж 10,7 мг/л				

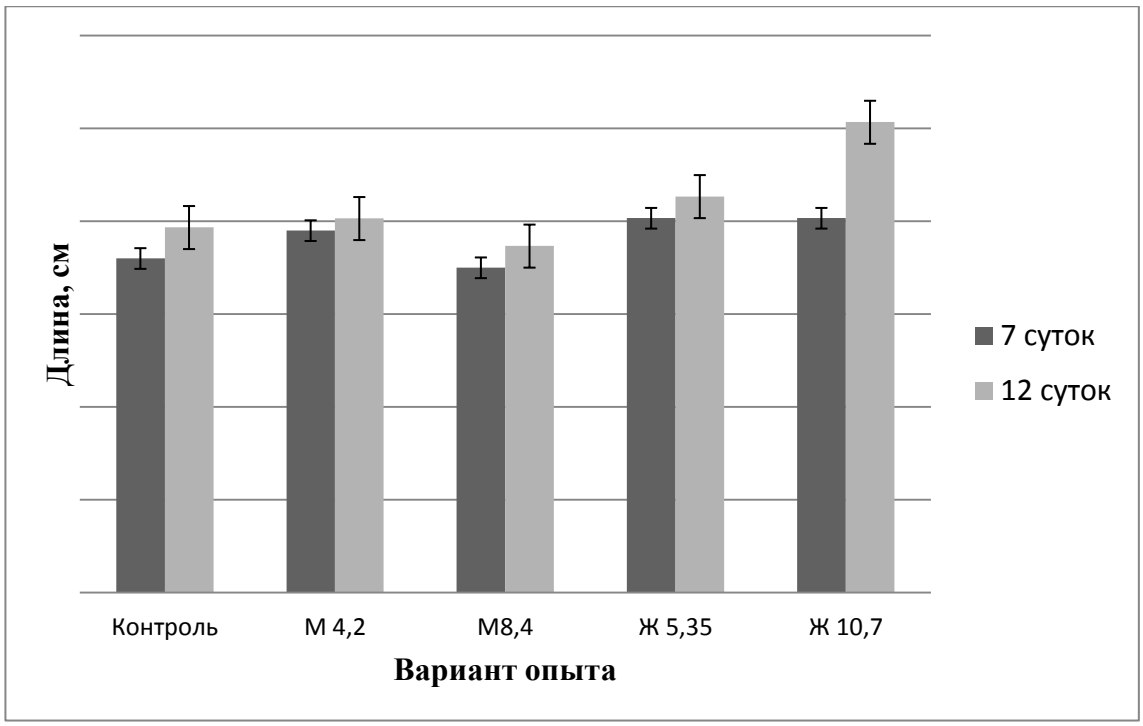


Рисунок 5 – Длина надземной части проростков кресс-салата в присутствии наночастиц в экспериментальных условиях

В контрольном варианте на 7 сутки длина составляла 3,6 см, на 12 сутки 3,9 см. В присутствии наночастиц М концентрации 4,2 мг/л незначительно выше, в концентрации 8,4 мг/л.

Не зарегистрировано достоверных отличий в длине проростков в опытном и контрольном варианте (таблица 7)

Таблица 7 – Сравнительная оценка прорастания семян кресс-салата при воздействии суспензии частиц ферригидрита различной концентрации с контрольным вариантом по критерию Стьюдента

Концентрация ферригидрита	7 суток	12 суток
М 4,2 мг/л		
М 8,4 мг/л		
Ж 5,35 мг/л		
Ж 10,7 мг/л		

Анализ данных общей длины проростков (таблица 8, рисунок 6) показал, что в контрольном варианте размеры не изменялись с 7 по 12 сутки.

Таблица 8 – Общая длина (см) проростков кресс-салата в экспериментальных условиях в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита

	Длина общая, см					
Вариант опыта	7 сутки			12 сутки		
	min	max	x±m	min	max	x±m
Контроль						
М 4,2 мг/л						
М 8,4 мг/л						
Ж 5,35 мг/л						
Ж 10,7 мг/л						

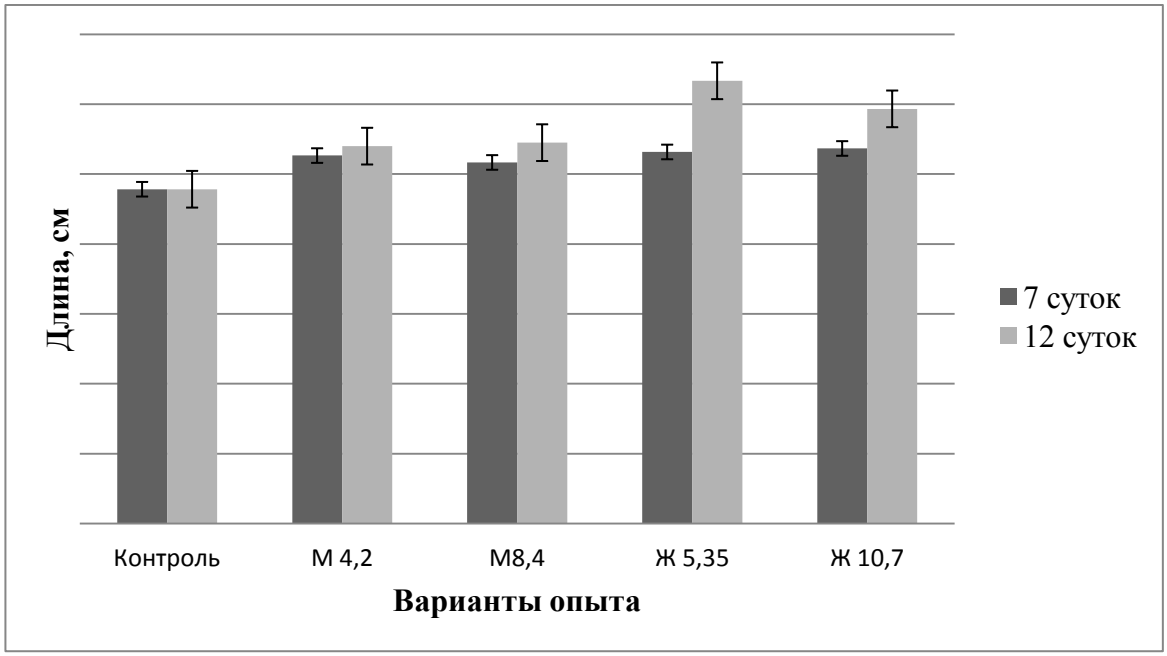


Рисунок 6 – Общая длина проростков кресс-салата в присутствии наночастиц в экспериментальных условиях

В присутствии наночастиц рост растений продолжался, но не имел достоверных отличий от контроля. Частицы Ж в незначительной степени

стимулировали рост растений, но значимых отличий по критерию Стьюдента от контрольного варианта не зафиксировано (таблица 9).

Таблица 9 – Сравнительная оценка прорастания семян кресс-салата при воздействии суспензии частиц ферригидрита различной концентрации с контрольным вариантом по критерию Стьюдента

Концентрация ферригидрита	7 суток	12 суток
М 4,2 мг/л		
М 8,4 мг/л		
Ж 5,35 мг/л		
Ж 10,7 мг/л		

Показатели массы растений изменились как в процессе развития, так и в вариантах опыта (таблица 10, рисунок 7).

Таблица 10 – Масса (мг) проростков кресс-салата в экспериментальных условиях в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита

Вариант опыта	Длительность, сутки			
	7 сутки		12 сутки	
	min max	x±m	min max	x±m
Контроль				
М 4,2 мг/л				
М 8,4 мг/л				
Ж 5,35 мг/л				
Ж 10,7 мг/л				

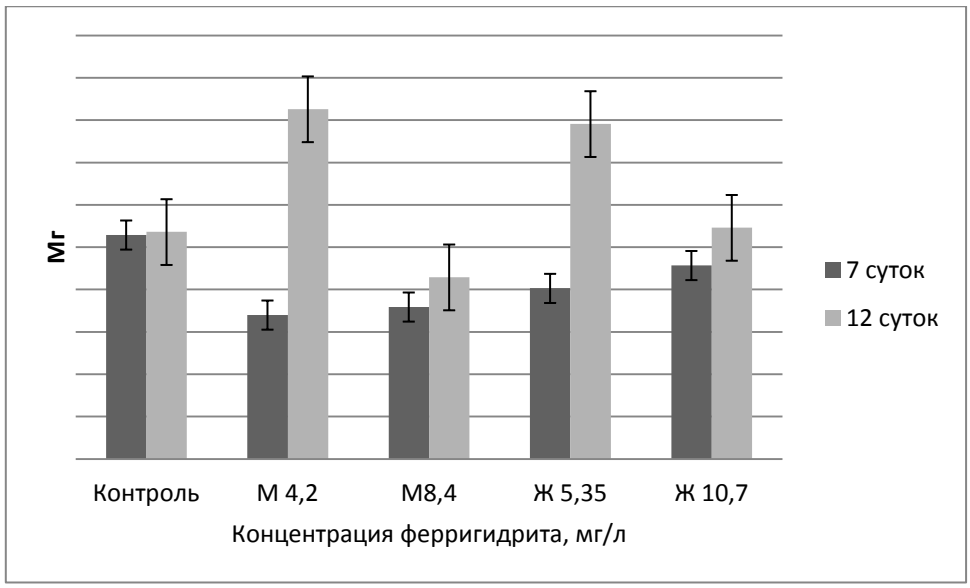


Рисунок 7 – Масса проростков кресс-салата в присутствии наночастиц в экспериментальных условиях

В контрольном варианте масса проростков составляла 0,53 мг на 7 сутки, 0,54 мг на 12 сутки. В присутствии наночастиц партии М с концентрацией 4,2 мг/л увеличили массу проростков на 12 сутки до 0,08 мг. Частицы партии Ж с концентрацией 5,35 мг/л увеличили массу на 12 сутки до 0,07 мг. Частицы М в концентрации 4,2 мг/л стимулировали набор массы проростков на достоверном уровне о чем свидетельствует значение критерия Стьюдента (таблица 11).

Таблица 11 – Сравнительная оценка прорастания семян кресс-салата при воздействии суспензии частиц ферригидрита различной концентрации с контрольным вариантом по критерию Стьюдента

Концентрация ферригидрита	7 суток	12 суток
М 4,2 мг/л		
М 8,4 мг/л		
Ж 5,35 мг/л		
Ж 10,7 мг/л		

Аналогичный эффект установлен и для частиц партии Ж в концентрации 5,35 мг/л.

3.2 Оценка действия биогенных наночастиц ферригидрита на рестение кресс-салат методом индуцированной хемилюминесценции

3.2.1 Люминолзависимая хемилюминесценция

Изучение возможного действия биогенных наночастиц ферригидрита на интенсивность индуцированной хемилюминесценции анализировали на примере люминолзависимой хемилюминесцентной активности. Анализ проводили на проростках кресс-салата на 6 и 8 сутки выращивания.

В ходе исследования определяли следующие характеристики:

1. Время выхода на механизмы (T мин)
2. Максимальное значение интенсивности (I max)
3. Площадь под кривой – светосумму (S)

Для изучения проростки из всех вариантов опыта разделили по частям: корень, остатки семени, стебель, лист.

Анализ результатов по времени максимальной вспышки показал следующее (рисунок 8, 9)

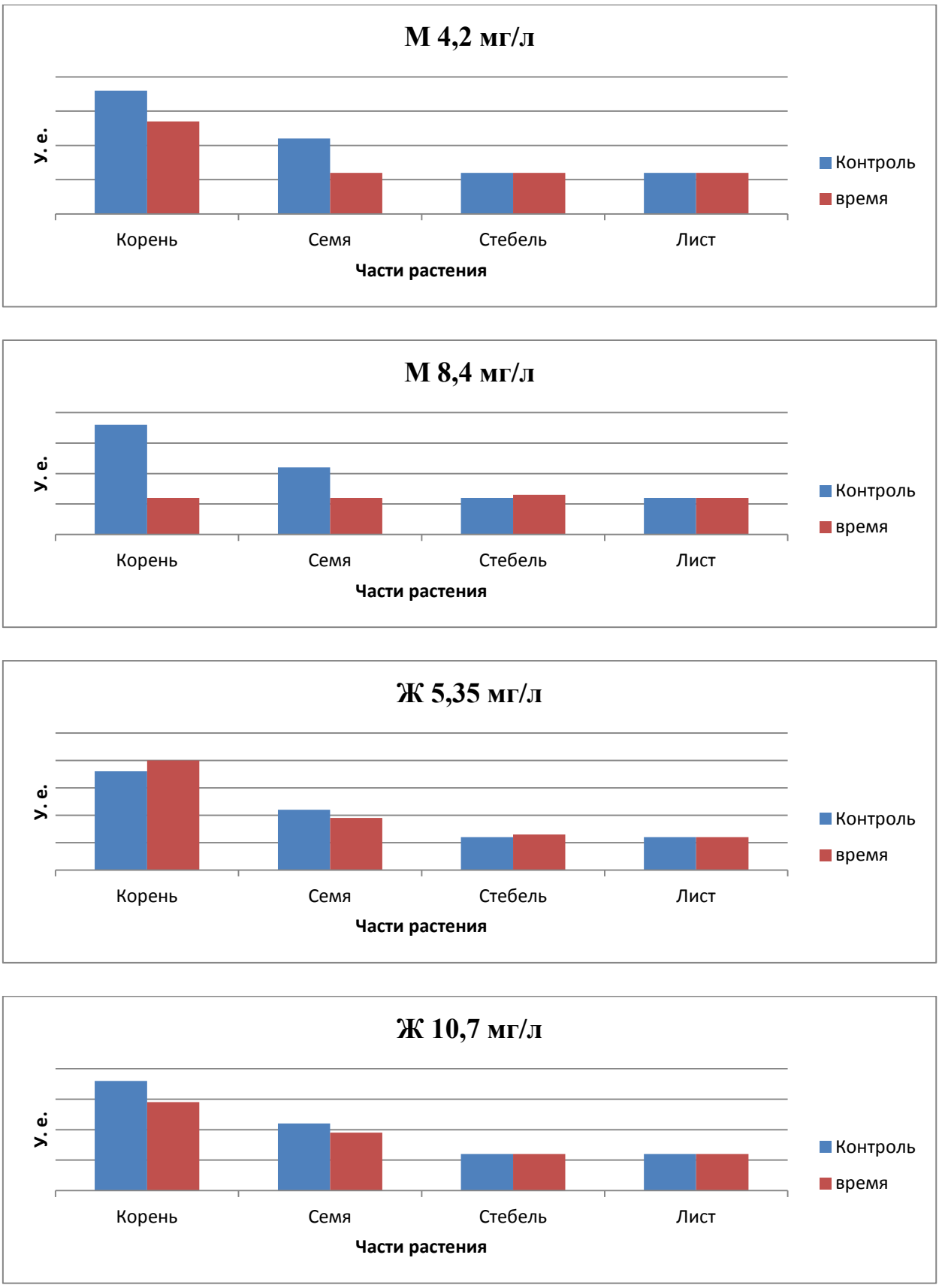
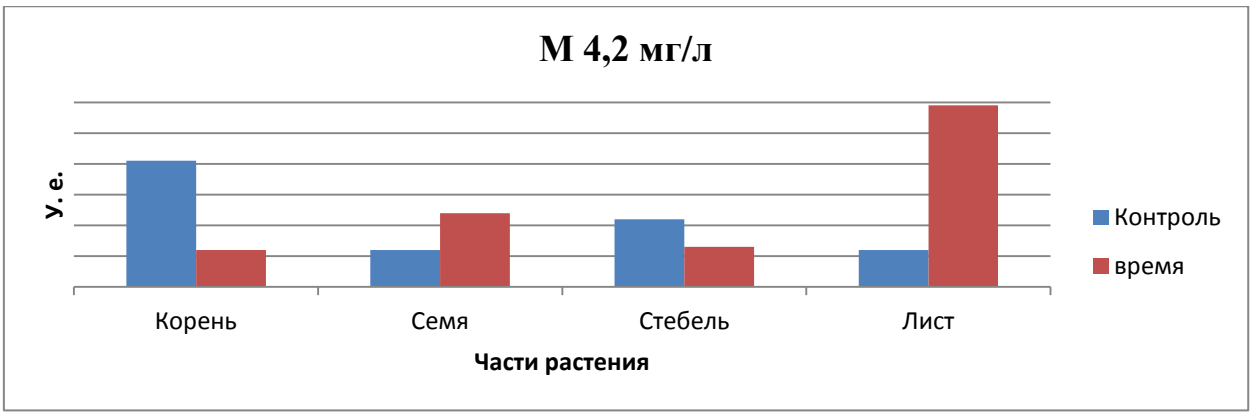
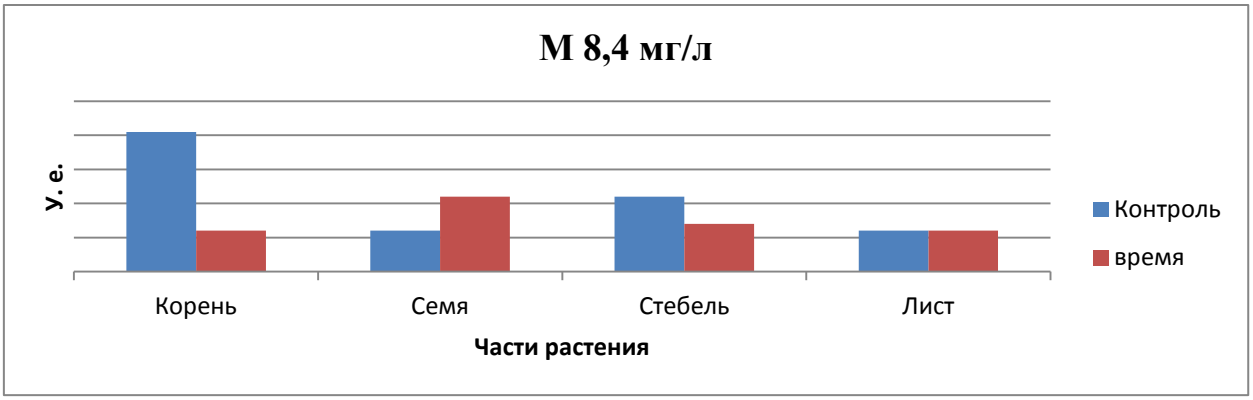
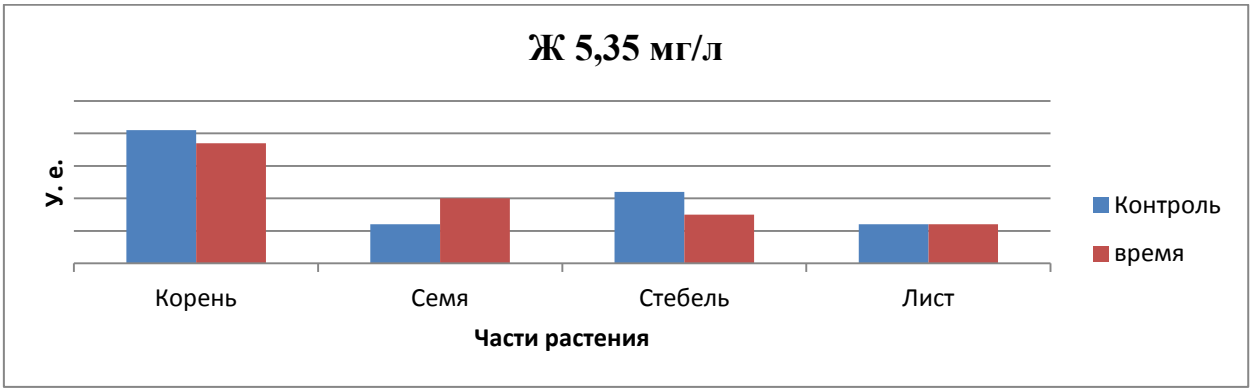


Рисунок 8 – Время выхода на максимум (Tmax, мин) при люминолзависимой хемилюминесцентной активности проростков кресс-салата (6 суток) в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита







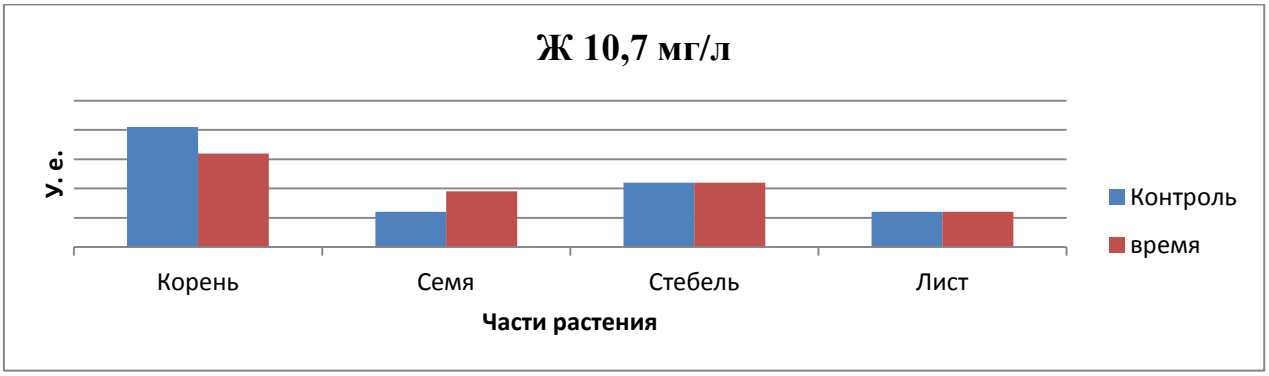
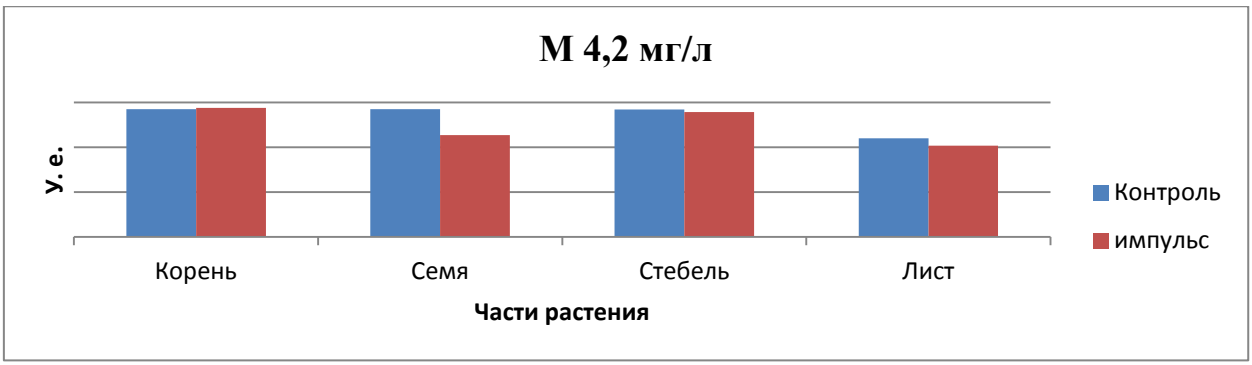


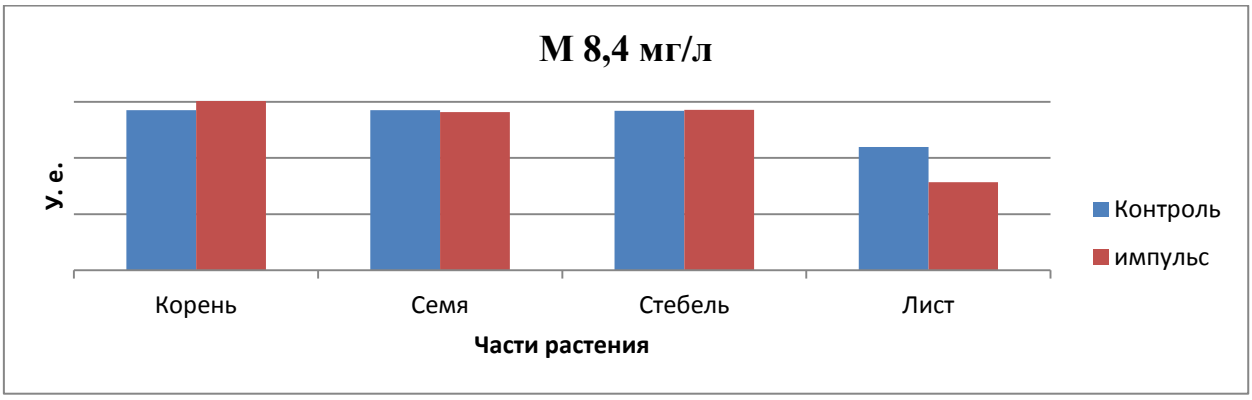
Рисунок 9 – Время выхода на максимум (Tmax, мин) при люминолзависимой хемилюминесцентной активности проростков кресс-салата (8 суток) в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита

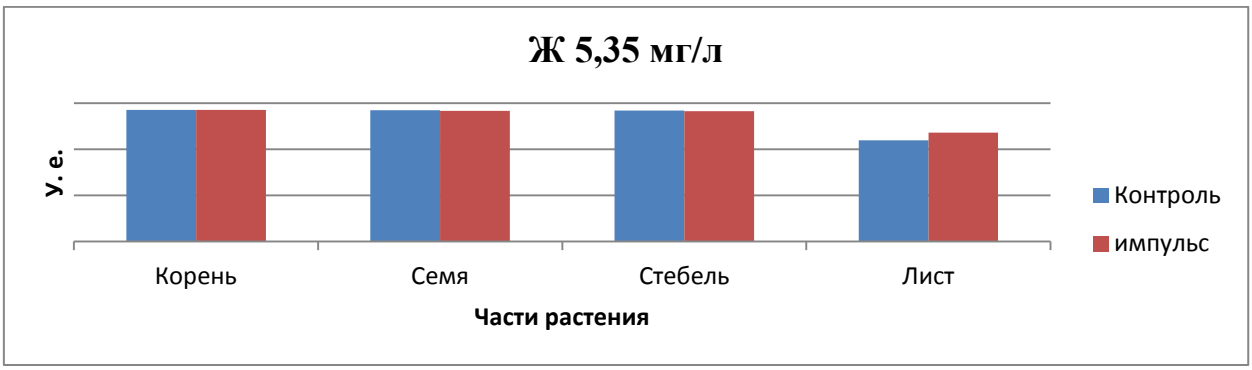
У проростков 6 суток в приземной части (стебель и лист) значения показателя были близкими во всех вариантах. Отличается в корне и остатках семени время реакции опыта короче, но достоверных отличий не было.

На 8 сутки опыта в корне и стебле отличается более быстрая реакция в присутствии наночастиц, в семени – более длинные, в листе – показатели стабильные, за исключением варианта с малой концентрацией частиц М. Но выявленные изменения не имели достоверных отличий по критерию Уилкоксона.

Максимальное значение интенсивности люминолзависимой хемилюминесцентной активности в тканях проростков семян были сходной на 6 сутки во всех частях растения и в каждом варианте опыта (рисунок 10, 11)







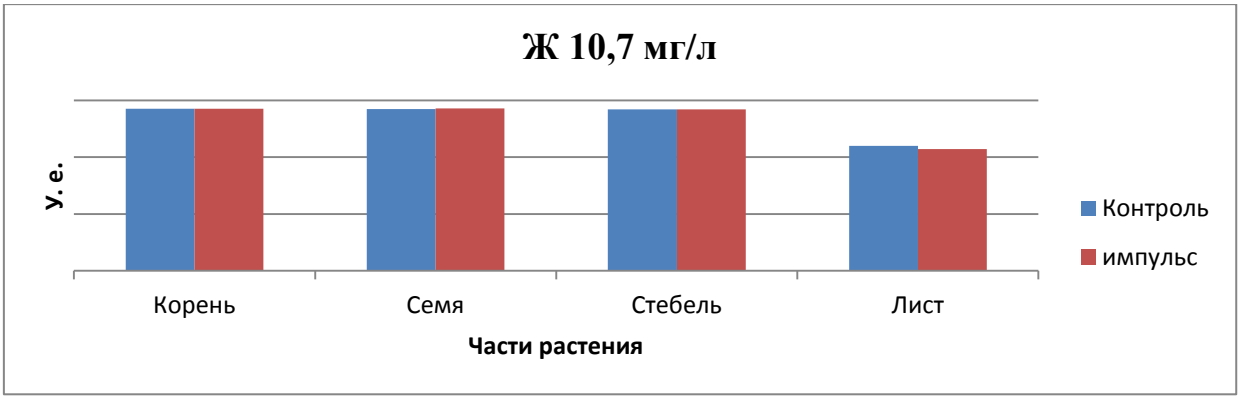
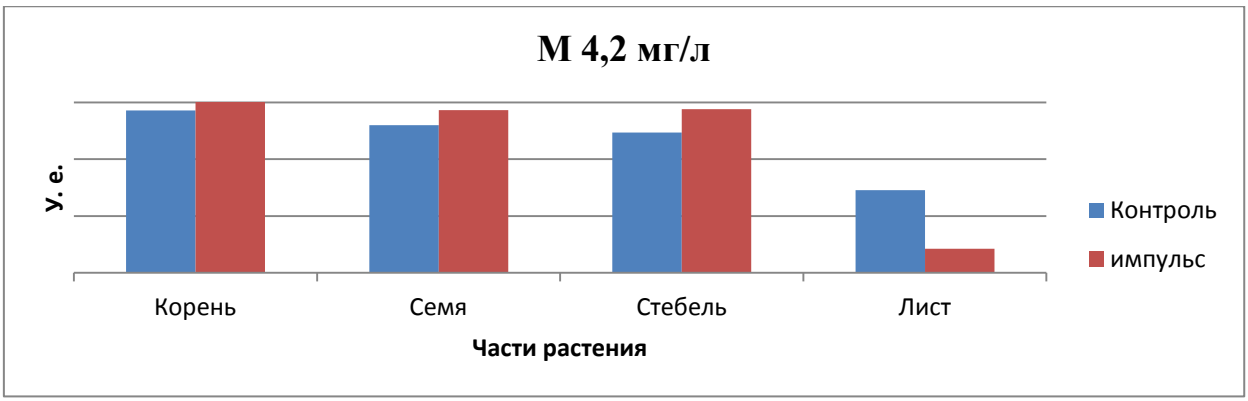
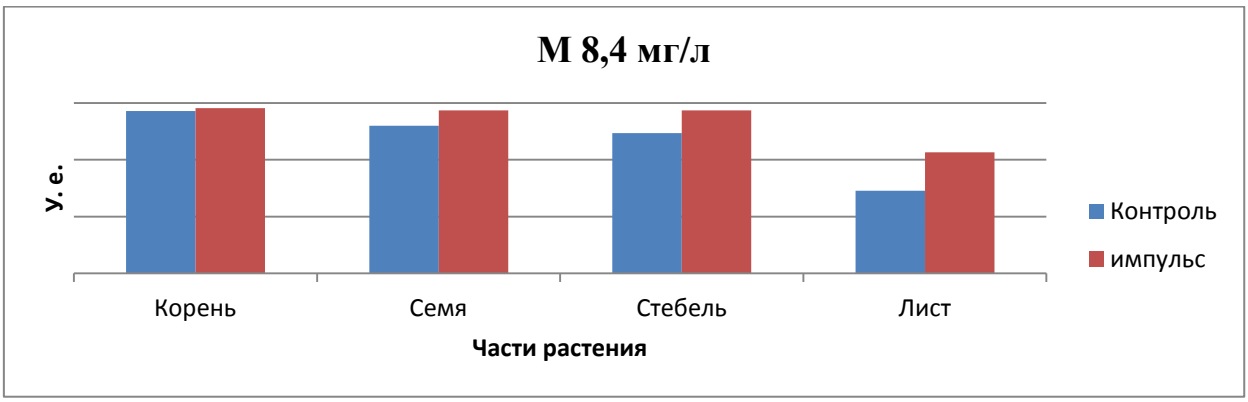
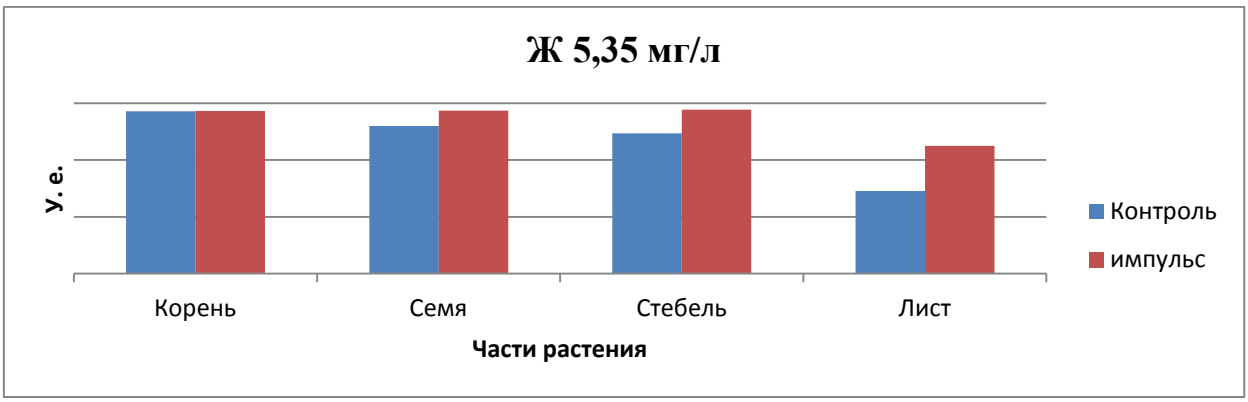


Рисунок 11 – Максимальное значение интенсивности (Imax, имп) люминолзависимой хемилюминесцентной активности проростков кресс-салата на 6 сутки в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита







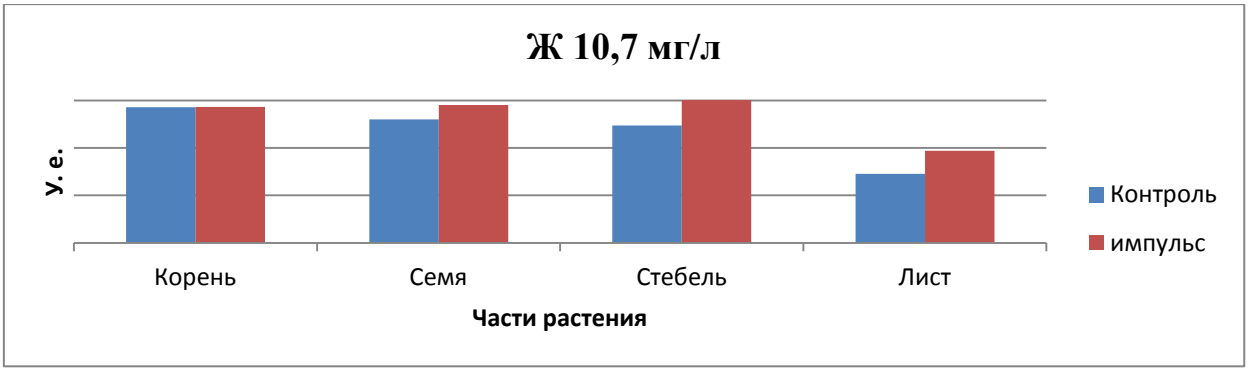
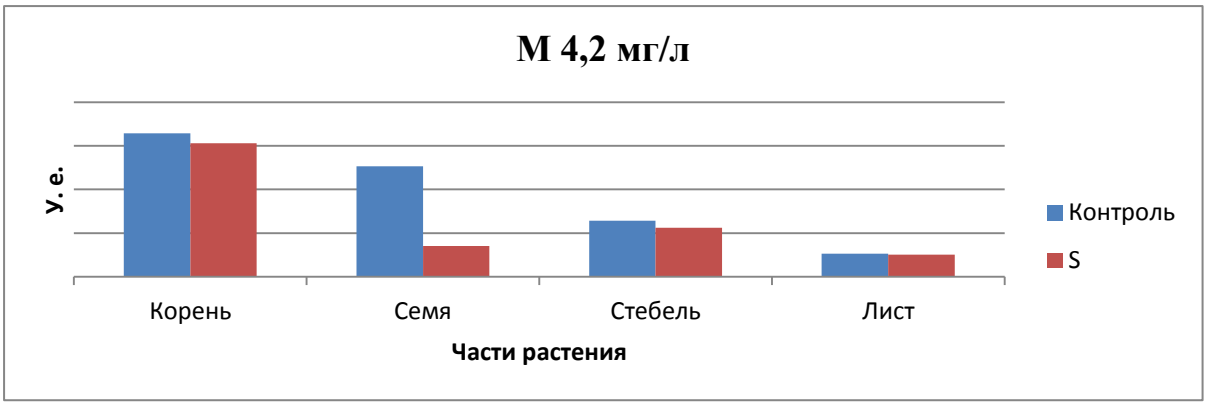
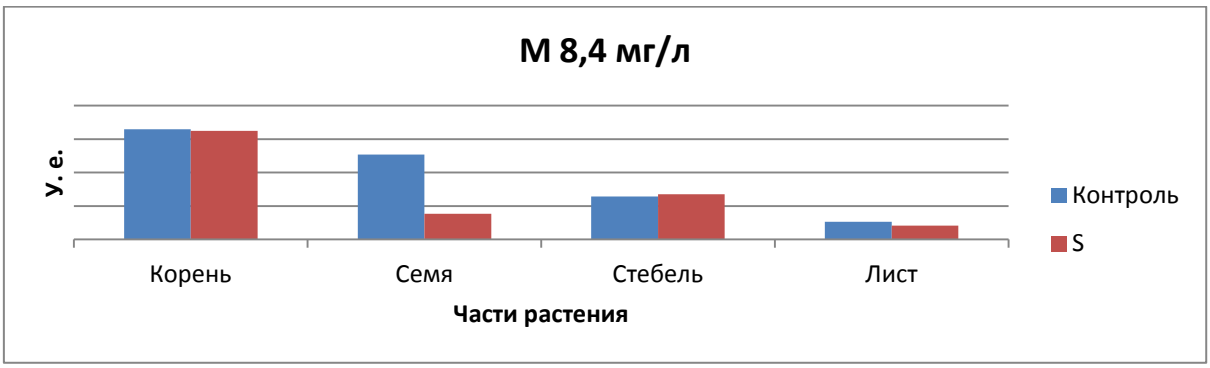
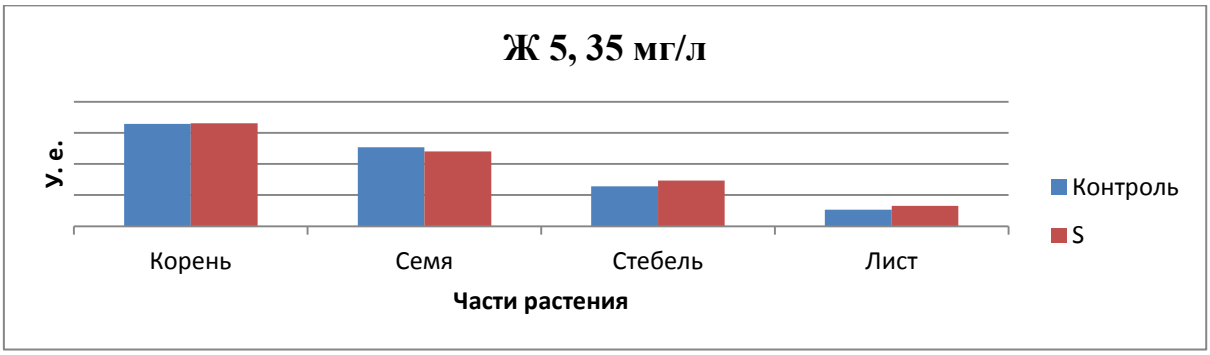


Рисунок 11 – Максимальное значение интенсивности (Imax, имп) люминолзависимой хемилюминесцентной активности проростков кресс-салата на 8 сутки в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита

На основе анализа люминолзависимой хемилюминесцентной активности проростков кресс-салата в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита выявили следующие по показателю суммарной площади (рисунок 12, 13).







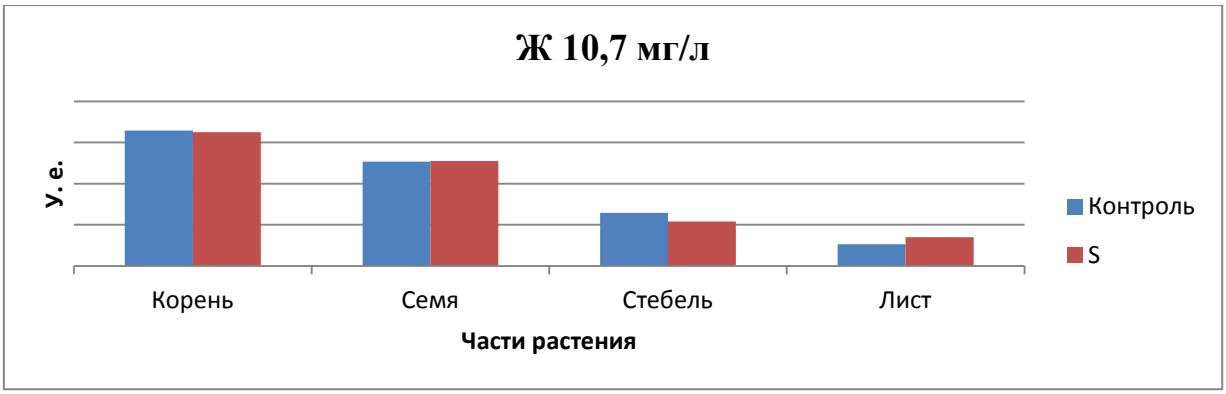


Рисунок 12 – Суммарная площадь (светосумма), у. е. люминолзависимой хемилюминесцентной активности проростков кресс-салата на 6 сутки эксперимента в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита

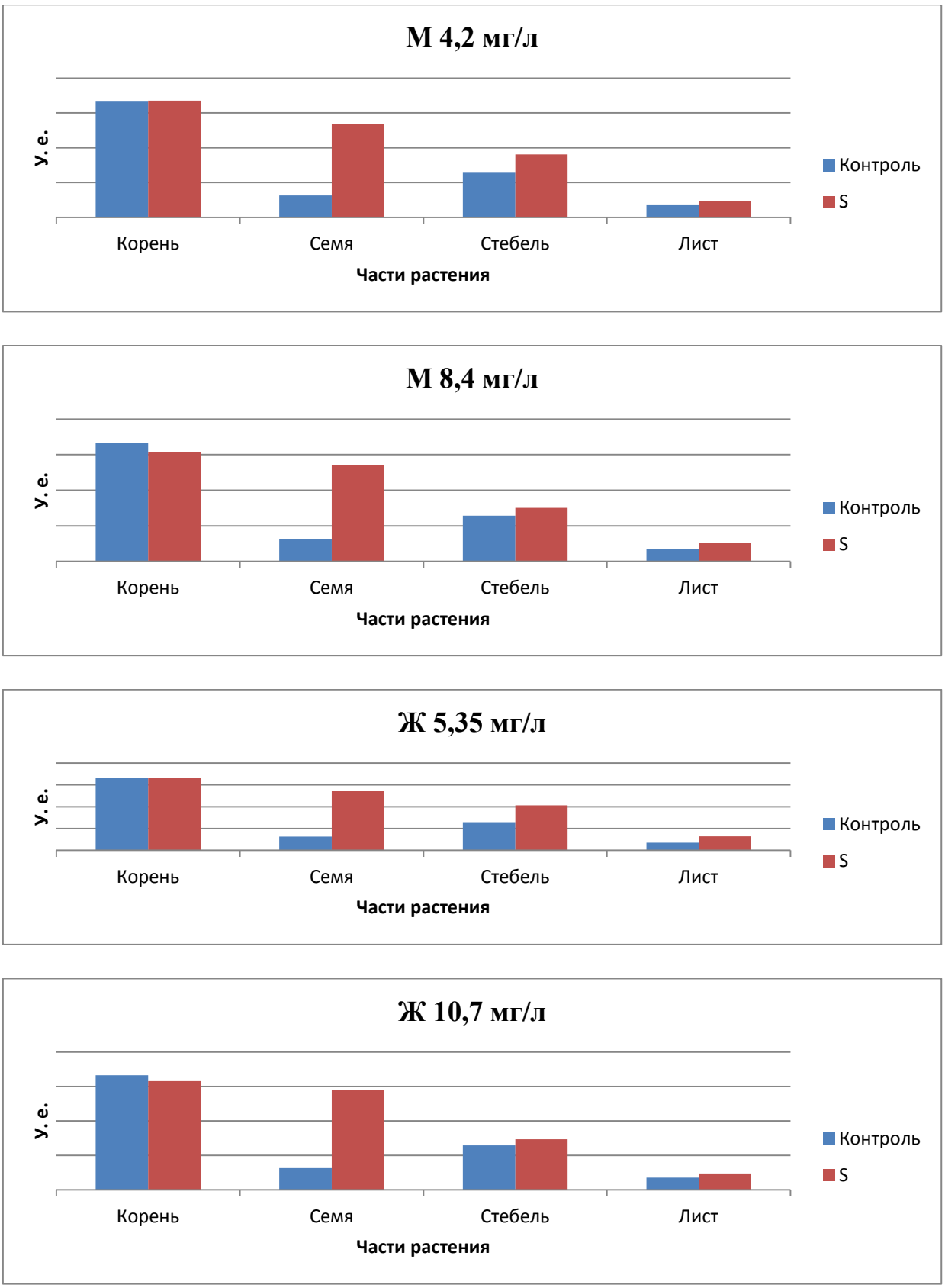


Рисунок 13 – Суммарная площадь (светосумма), у. е. люминолзависимой хемилюминесцентной активности проростков кресс-салата на 8 сутки эксперимента в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита

Во всех вариантах выявили градацию интенсивности хемилюминесцентной активности по частям растения: с постепенным снижением от корня к листу. Что связано с резистентностью разных частей к перекисному окислению с закрытой антиоксидантной системой, особенно в приземной части проростков.

При действии биогенных наночастиц выявлен прооксидантный эффект у проростков на 8 сутки для обоих партий частиц. Достоверность увеличения суммарной площади по отношению к контролю подтверждается применением парного критерия Уилкоксона $p<0,05$. В наименьшей степени проявилась реакция в корне проростков, где активность была на максимальном уровне в опытном и контрольном вариантах, и в листьях, имеющих низкое значение хемилюминесцентной активности в связи с защитной прооксидантной системы ассимиляционных тканей. В наибольшей степени прооксидантный эффект проявлялся в семени.

Таким образом исследование хемилюминесцентной активности проростков кресс-салата в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита показали устойчивость проростков на 6 сутки и снижение механизма перехвата оксиданта на 8 сутки. Уровень хемилюминесцентной активности уменьшается от корней до листьев во всех вариантах эксперимента, что соответствует классическим представлениям о сложном механизме защитной антиоксидантной системы в тканях, где происходят процессы фотосинтеза. По мере увеличения возраста проростков кресс-салата по видимому накапливается воздействие наночастиц, что проявляется антиоксидантном эффекте у проростков 8 суток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ на кресс-салате в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита позволил сделать следующие выводы:

1. В экспериментальных условиях не отмечено достоверного воздействия биогенных наночастиц ферригидрита на энергию прорастания и всхожесть семян кресс-салата;
2. Присутствие биогенных наночастиц ферригидрита не изменяет скорости линейного роста проростков кресс-салата. Для массы проростков зарегистрирован стимулирующий эффект для малых концентраций частиц М и Ж на 7 сутки;
3. По данным люминолзависимой хемилюминесценции выявлено отличие частей растения с постепенным снижением активности от корня к листу в контрольном и опытном вариантах на 6 сутки и в опытном вариантах на 8 сутки. В корне проростка зарегистрирована стабильно высокая активность в опытном и контрольном вариантах;
4. Биогенные наночастицы вызывают прооксидантный эффект, проявляющийся на 8 сутки. По видимому это связано со снижением работы защитной антиоксидантной системы в тканях проростков.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Алексеенко, В.А. Жизнедеятельность и биосфера / В. А. Алексеенко. -М. Логос, 2005, - 240с.

2. Архангельская, Н. Н. Сверхслабая хемилюминесценция модельных и биологических систем // Изв. АН ЭССР. – 1982.- Т. 31, №2.-с. 65-78.

3. Баранов, М. Е. Экологический эффект биогенных наночастиц ферригидрита при ремедиации нефтезагрязненных почвенных субстратов : автореф. дис. канд. биол. наук : 03.02.08 / Баранов Михаил Евгеньевич. – Красноярск, 2015. – 24-30 с.

4. Баранов, М. Е. Пути снижения вредного воздействия ракетно-космических комплексов на окружающую среду / М. Е. Баранов, В. Н. Анпилогов, О. А. Платонов // Решетневские чтения: материалы 12 Международной научной конференции, посвященной памяти генерального конструктора ракетно-космических систем академика М. Ф. Решетнева / под общ.ред. И. В. Ковалева; СибГАУ – Красноярск, 2008. С. 149-150.

5. Битюцкий, Н. П. Микроэлементы и растение / Н. П. Битюцкий СПб.: изд-во СПбГУ, 1999. - 232 с.

6. Брагинский, Л.П. «Общие принципы и некоторые теоретические вопросы биотестирования» //обобщенные показатели качества воды. Практические вопросы биотестирования и биоиндикации. –Черноголовка. Ин-т хим.физики, АН СССР 1983 с.3-8.

7. Бураева, Е.А. Содержание и распределение естественных радионуклидов в различных типах почвы Ростовской области / Бураева Е.А. [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 4 (электронный журнал). - URL: www.science-education.ru/110-9652.

8. Бурлакова, Е.Б. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты / Е.Б. Бурлакова, Н.Г. Храпов // Успехи химии. - 1985. - Т. 54, №9. - С.1540-1558.

9. Васильев, Р.Ф. Химическое свечение / Р. Ф. Васильев // Химия и химики.-2010.- № 1. – С. 12-25.

10. Величковский, Б.Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды / Б.Т. Величковский // Вестник РАМН. – 2002. №3. – С. 22-24.

11. Величковский, Б. Т. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Б. Т. Величковский, Ю.А. Владимиров // Вестник РАМН. - 2001. - № 6. - С. 45-52.

12. Веселовский, В. А. Хемилюминесцентный метод анализа в биологии / Спектроскопич. методы исследов. в физиол. и биохимии. – Л.:Наука, 1987. – С 34-37.

13. Владимиров, Ю. А. Активированная хемилюминесценция и биолюминесценция как инструмент в медико-биологических исследованиях / Ю. А. Владимиров // Соросовский образовательный журнал. – 2001. - № 1. – С. 48-54.

14. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю.А. Владимиров // Вестн. РАМН. - 1998.-№7.-С. 43-51.

15. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция / Ю. А. Владимиров, Е. В. Проскурина // Успехи биологической химии. – 2009. –Т. 49. –С. 341-388.

16. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю.А. Владимиров // Соросовский образовательный журнал. - 2000. -№ 12.-С. 13-19.

17. Владимиров, Ю.А. Электронный парамагнитный резонанс и хемолюминесценция - прямые методы исследования свободных радикалов и реакций, в которых они участвуют / Ю.А. Владимиров // Эфферентная терапия. - 1999. - № 4. - С. 18-27.

18. Всё о лекарственных растениях на ваших грядках / Под ред. Раделова С. Ю. — СПб: ООО «СЗКЭО», 2010. — С. 116—119. — 224 с.

19. ГОСТ 12038-84 Методы сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – Введ. 01.07.1986. – СССР : Стандартинформ, 1986. – 20 с.

20. Грачева, Т.А. Совершенствование хемилюминесцентного метода исследования функциональной активности фагоцитирующих клеток / Т. А. Грачева // Клиническая лабораторная диагностика. -2008. - № 2. - С. 54-55.

21. Гродницкая, И. Д. Влияние химических и биологических методов обработки на прорастание семян хвойных в питомниках / И. Д. Гродницкая // Хвойные бореальные зоны.- 2006. - № 1. – С. 137-144.

22. Гуськов, Е.П. Генетика окислительного стресса / Е. П. Гуськов [и др.]. / Ростов н/Д : Изд-во СКНЦ ВЩЮФУ. - 2009. – С. 156.

23. Дудченко, Л. Г., Козьяков А. С., Кривенко В. В. Пряно-ароматические и пряно-вкусовые растения: Справочник / Отв. ред. К. М. Сытник. — К.: Наукова думка, 1989. — 304 с. — ISBN 5-12-000483-0.

24. Европейский портал нанотехнологий [Электронный ресурс]. – URL: www nanoforum.org.

25. Журавлев, А.И. Теоретические и методические основы биохемилюминесценции / А. И. Журавлев // - Москва. - 1986.- С. 52-56.

26. Калашникова, Е.А. Теоретические и практические аспекты применения нанотехнологий при подготовке семян к посеву / Е. А. Калашникова, А. Р. Родин // Вестник МГУЛ-Лесной вестник. – 2012, № 7 (90). – С. 65-66.

27. Коваленко, Л.В. Биологически активные нанопорошки железа / Л.В. Коваленко, Г.Э. Фолманис. – М.: Наука. – 2006. – 124 с.

28. Кондакова, К.С. Влияние ионов, нано- и микрочастиц железа на люминесценцию и рост рекомбинантного штамма Escherichia coli с клонированным lux-опероном Photobacterium leiognathi в тесте острой и хронической токсичности / К.С. Кондакова, Т.Д. Дерябина // Нанотехника. - 2012.-№ 4. - С. 47-52.

29. Кудрявцева, Е.А. Влияние различных форм железа на прорастание семян Triticum aestivum L. / Е.А. Кудрявцева, Л.В. Анилова, С.Н. Кузьмин, М.В. Шарыгина // Вестник Оренбургского государственного университета. - 2013. - № 6 (155). - С. 46-48.

30. Кучкин, А. Г. Анализ экологической обстановки на объектах эксплуатации ракетно-космической техники Министерства обороны Российской Федерации / А. Г. Кучкин, С. В. Хижняк, Е. Я. Мучкина, М. Е. Баранов, В. Н. Анпилогов. // Вестник СибГАУ-Красноярск, 2012.-№7(42), С. 91-95.

31. Лакин, Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин,- М: Высш. Шк., 1990.-352 с.

32. Лопатин, А. С. Изучение свойств магнитных наночастиц в оториноларингологии / А. С. Лопатин, К. Г. Добрецов, В. Ю. Афонькин, С. В. Столяр, В. П. Ладыгина, А. В. Сипкин, К. В. Пуртов, О. А. Баюков // Российская оториноларингология. – 2009. - № 3. – С. 51-56.

33. Никандров, В.В. Неорганические полупроводники в биологических и биохимических системах: биосинтез, свойства и фотохимическая активность // Успехи биологической химии. 2000. Т. 40. С. 357–396.

34. Омельченко, Г.В. Оценка мутагенной активности приземного слоя воздуха промышленных регионов методом индуцированной хемилюминесценции / Г. В. Омельченко, Т. В. Вардуни, Е. И. Шиманская, Е. А. Бураева, В. Н. Прокофьев, В. А. Чохели, К. В. Азарин, А. А. Въюхина, М. М. Вардуни, И. Я. Шерстнева // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 5. – С. 13-15.

35. Пахомова, В.М., 2010. Фотосинтетическая деятельность и урожайность яровой пшеницы / В. М. Пахомова, Е. К. Бунтукова, Н. М. Фомина. – 2010. – С. 98-103.

36. Поллард, Дж «Вычислительные методы в прикладной статистике», М: Мир, 1982. [Электронный ресурс] : Режим доступа : http://graphpad.com/quickcalcs/contingency1.cfm.

37. Райкова, А. П. Исследование влияния ультрадисперсных порошков металлов, полученных различными способами, на рост и развитие растений / А. П. Райкова, Л. А. Паничкин, Н. Н. Райкова // Нанотехнологии и информационные технологии XXI века. – 2006. – С. 69-72.

38. Рубин, Б. А., О способности некоторых растений к синтезу хлорофилла в отсутствии света. Успехи современной биологии / Б. А. Рубин, И. А. Чернавина, Л. Ф. Николаева. - 1966. – С. 207.

39. Рябинина, З.Н. Растительный покров степей Южного Урала (Оренбургская область) / З.Н. Рябинина. — Оренбург: Издательство ОГПУ, 2003. — 224 с.

40. Савченко, А.А. Хемилюминесцентная и энзиматическая активность нейтрофильных гранулоцитов у больных распространенным гнойным перитонитом в зависимости от исхода заболевания / Д. Э. Здзитовецкий, А. Г. Борисов, Н. А. Лузан // Вестник РАМН. – 2014. –№ 5-6. – С. 23-28.

41. Свободные радикалы в живых системах / Ю.А. Владимиров, О.А. Азизова, А.И. Деев [и др.]. - М., 1991. - 249 с.

42. Сипайлова, О. Ю. Влияние высокодисперсного порошка железа на морфофункциональное состояние селезенки (экспериментальное исследование) / О. Ю. Сипайлова, С. В. Лебедев, Е. А. Сизова // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. – 2011. – № 8. – С. 43-46.

43. Сипайлова, О.Ю. Морфофункциональная характеристика печени крыс при интраперитонеальном введении наночастиц железа / О.Ю. Сипайлова, Г.И. Корнеев, Е.А. Сизова // Международное научное издание «Современные фундаментальные и прикладные исследования». – 2012. – №2. – 17-21.

44. Столяр, С.В. Железосодержащие наночастицы, образующиеся в результате жизнедеятельности микроорганизмов / С. В. Столяр, О. А. Баюков, Ю. Л. Гуревич, Е. А. Денисова, Р. С. Исхаков, В. П. Ладыгина, А. П. Пузырь, П. П. Пустошилов, М. А. Битехтина // Неорганические материалы .- 2006.- том 42, № 7.- С. 1-6.

45. Столяр, С.В. Магнитные свойства суперпарамагнитных наночастиц $Fe_2O_3 \cdot H_2O$, синтезированных бактериями / С. В. Столяр, О. А. Баюков, Ю. Л. Гуревич, Е. А. Денисова, Р. С. Исхаков, В. П. Ладыгина, А. П. Пузырь, П. П. Пустошилов, М. А. Битехтина // Материаловедение.- 2006.- №7.- С. 34-39.

46. Столяр, С.В. Мессбауэровские исследования бактериального ферригидрита / С. В. Столяр, О. А. Баюков, Ю. Л. Гуревич, В. П. Ладыгина, Р. С. Исхаков, П. П. Пустошилов // Неорганические материалы. -2007.- Т. 43, № 6.- С. 1-4.

47. Столяр, С.В. Мессбауэровские исследования железопродуцирующих бактерий Klebsiella oxytoca / С. В. Столяр, О. А. Баюков, Ю. Л. Гуревич, В. П. Ладыгина, Р. С. Исхаков // Известия РАН Серия физическая.- 2007.- Т. 71, № 9.-С. 1310-1314.

48. Суздалев, И.П. Нанотехнология: физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов. М., изд. КомКнига, серия «Синергетика: от прошлого к будущему», 2006, 592с

49. Титова, В.И. Агро- и биохимические методы исследования состояния экосистем / В.И. Титова, Е.В. Дабахова, М.В. Дабахов. – Н. Новгород. – Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 2011. – 170 с.

50. Тюрин-Кузьмин, А.Ю. Ячейка для хемилюминесцентного анализа взаимодействия клеток крови с макроскопической твердой поверхностью // Клиническая лабораторная диагностика. - 2007. - № 6. - С. 36-39.

51. Фадькин, Г.Н. Изучение влияния нанокристаллических порошков металлов на рост и развитие сеянцев сосны обыкновенной / Г. Н. Фадькин, А. В. Нестеренко // Юбилейный сборник научных трудов студентов, аспирантов и преподавателей агроэкологического факультета, посвященный 110-летию со дня рождения профессора Травина И.С. Материалы научно-практической конференции. – 2010. – С. 158-161.

52. Фадькин, Г.Н. Влияние нанокристаллического порошка железа на выход посадочного материала сосны обыкновенной, пригодного для

механизированной посадки / Г. Н. Фадькин Д. В., Виноградов, А. В. Щур // Вестник Беларусско-Российского университета.- 2015. - № 2(47). – С. 21-23.

53. Хижняк, С.В. Биогенные наночастицы на основе железа как нейтрализатор токсичности углеводородов / С. В. Хижняк, Ю.Л. Гуревич, Е. Я. Мучкина, М. Е. Баранов // Вестник КрасГАУ. – 2011. - № 9. – С. 2-5.

54. Чурилов, Г.И. Нанокристаллические металлы как экологически чистые микроудобрения / Г. И. Чурилов, М. М. Сушилина // Экологическое состояние природной среды и научно-практические аспекты современных мелиоративных технологий: сб. науч. тр. вып. 3. Рязань, 2008, с. 84-86.

55. Шапиро, Я.С. Биологическая химия, - М. - Издательский центр Вентана-Граф, -2010. – С. 113-118.

56. Швыдченко, И.Н.Цитосекретирующая функция нейтрофильных гранулоцитов / И. Н. Швыдченко, И. В. Нестерова, Е. Ю. Синельникова // Иммунология. - 2005. - № 1. - С. 31-34.

57. Шилина, Н. Г. Методические указания к аудиторной работе для студентов 1 курса, обучающихся по специальности 060105 – стоматология / Н. Г. Шилина, И. М. Попельницкая, Л. А. Шапиро. - Красноярск: типография КрасГМУ. -2009. – С. 121.

58. Шиманская Е.И. Разработка и внедрение в практику новых методов биоиндикации токсичности приземного слоя воздуха промышленных центров / Шиманская Е.И. [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2013. - № 8. - С.156-158.

59. Школьник, М. Я. Значение микроэлементов в жизни растений и земледелии Советского Союза, -М., Изд-во Академии наук СССР, 1963. – С. 37-40.

60. Энциклопедия систем жизнеобеспечения: сб. – М.: Техносфера, 2009. – 991 с.

61. Crane, R. A. Nanoscale zero-valent iron: Future prospects for an emerging water treatment technology. Journal of Hazardous Materials / R. A. Crane, T. Scott. - 2012, - P. 211-212

62. Mace, C. -X. Nanotechnology and groundwater remediation: a step forward in technology understanding. Remediation / C. Mace, S. Desrocher, F. Gheorghiu, A. Kane, M. Pupeza, M. Cernic, P. Kvapil, R. Venkatakishnan, W. Zhang. - 2006, № 6, - P. 23-24.

63. Zhu, H. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants / H. Zhu, J Han., J.Q. Xiao, Y Jin. // J. Environ. Monit. - 2008. № 10. - P. 713-717.