

УДК 504.064:620.3

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ МЕТАЛЛ/УГЛЕРОДНОГО НАНОКОМПОЗИТА МЕДИ МЕТОДОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

А. В. Худякова, Т. Г. Леконцева, А. В. Федоров

*Удмуртский федеральный исследовательский центр УрО РАН
Россия, 426067, Ижевск, Т. Барамзиной, 34
E-mail: khudyakova.ana@yandex.ru*

Поступила в редакцию 5.03.2018 г., после доработки 22.05.2018 г., принята 18.06.2018 г.

Худякова А. В., Леконцева Т. Г., Федоров А. В. Оценка токсичности металл/углеродного нанокompозита меди методом биотестирования // Поволжский экологический журнал. 2018. № 3. С. 340 – 348. DOI: <https://doi.org/10.18500/1684-7318-2018-3-340-348>

Оценено токсическое действие металл/углеродного нанокompозита меди (MeC НК Cu) на семена высших растений и бактериальный сенсор «Эколом-8». Установлено достоверное ингибирующее воздействие 0.1%-ного наноматериала на проростки семян редиса. Стимулирующий эффект на развитие корней данной культуры обнаружен при концентрации препарата $1 \times 10^{-8}\%$ (на 11.3%), однако он был несущественным. При использовании в качестве тест-объекта пшеницы отмечено подавление роста корней при обработке семян нанокompозитом в концентрации 0.1 и 0.01%, (уменьшение составило 30.2 и 79.6% соответственно). Стимулирующего влияния на корневую систему пшеницы не выявлено. На развитие надземной части проростков пшеницы препарат также не оказывал влияния, за исключением подавления роста на 60.0% в варианте с обработкой 0.1%-ным раствором MeC НК Cu. В качестве второго объекта биотестирования использовали лиофилизированные клетки штамма *Escherichia coli* K12 TG1 (pXen7), содержащего полный *lux*-оперон *Photobacterium luminescens*. На основе биолюминесцентного анализа выявлено, что все исследуемые концентрации нанокompозита меди были сильно токсичными для бактериального штамма (индекс токсичности >70%). Величина токсикологического параметра EC₅₀, соответствующая концентрации вещества, вызывающей 50% ингибирование свечения сенсорного микроорганизма по сравнению с контролем, оказалась ниже минимальной тестируемой концентрации растворов MeC НК Cu. Расчет производили математически, и вероятное значение EC₅₀ оказалось равным 0.016 мкг/мл.

Ключевые слова: биотестирование, семена высших растений, биолюминесценция, бактериальный сенсор «Эколом-8».

DOI: <https://doi.org/10.18500/1684-7318-2018-3-340-348>

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в связи с развитием и внедрением нанотехнологий особую остроту приобретают проблемы, связанные с возможным воздействием техногенных наночастиц на жизнедеятельность живых организмов (Астафурова и др., 2011). Для воссоздания более реалистичной картины потенциальной экологической токсичности наночастиц необходимо проводить масштабное исследование с использованием различных биологических объектов представителей растений и животных различных классов (Абраменко, 2017).

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ МЕТАЛЛ/УГЛЕРОДНОГО НАНОКОМПОЗИТА МЕДИ

В опытах по биотестированию наночастиц многие исследователи отдают предпочтение растительным объектам, поскольку они обладают чрезвычайно высокой чувствительностью к внешним слабоинтенсивным факторам, иногда на порядок превышающей чувствительность объектов животного происхождения. Кроме того, они характеризуются малогабаритностью (например, семена), огромным генетическим и морфологическим разнообразием (Маслоброд и др., 2014). Растения представляют интерес и как высокоинформативные экспериментальные модели, позволяющие проанализировать большие объемы биологического материала в течение вегетационного опыта в полевых условиях (Астафурова и др., 2011).

Еще одним востребованным инструментом для проведения экологических, санитарно-токсикологических и иных видов исследования являются природные и рекомбинантные люминесцирующие микроорганизмы (Дерябин и др., 2012). В основу их практического использования положен принцип оценки активности люминесцирующей системы, интегрально реагирующей снижением интенсивности свечения при появлении в исследуемой среде химических поллютантов или проявлении токсических свойств у вновь синтезируемых веществ и соединений. При этом наряду с быстроедействием и высокой чувствительностью важным достоинством теста ингибирования бактериальной биолюминесценции является хорошая корреляция с результатами, получаемыми с использованием более сложных методов биотестирования.

Цель исследования – оценка токсического действия металл/углеродного нанокompозита меди с использованием двух тест-объектов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе исследовали токсичность суспензии металл/углеродного нанокompозита меди (MeC НК Cu), стабилизированной 5%-ным раствором сахара.

Медиико-биологическую оценку безопасности наноматериала на основе семян высших растений проводили согласно МУ 1.2.2635-10 (Методические указания..., 2010 а). В качестве индикаторов токсичности рекомендуется использовать проростки семян следующих высших растений: пшеницы, ржи, ячменя, овса, кукурузы, редиса, белой горчицы, лука, фасоли обыкновенной. В данной работе использовали проростки семян редиса *Raphanus sativus* Linnaeus, 1753 (сорт Чемпион) и пшеницы яровой *Triticum aestivum* Linnaeus, 1753 (сорт Иргина). Были апробированы концентрации MeC НК Cu от 10^{-1} до $10^{-8}\%$. Нанесение исследуемого образца на поверхность семян проводили путем легкого встряхивания семян в бюксе с образцом в течение 30 секунд. Семена в количестве 20 штук раскладывали на двух-трех слоях увлажненной бумаги в чашках Петри, повторность опыта четырехкратная для каждого варианта обработки. Подготовленные таким образом чашки Петри помещали в термостат на проращивание при температуре 20°C и отсутствии освещенности. Экспозиция составила 7 дней. Оценивались такие показатели, как энергия прорастания, всхожесть, длина подземных и надземных частей растений.

Для изучения биотоксичности нанокompозита также использовали бактериальный сенсор «Эколом-8» (Методические указания..., 2010 б), представляющий собой лиофилизированные клетки штамма *Escherichia coli* K12 TG1 (pXen7), содержащего полный *lux*-оперон *Photobacterium luminescens* размером 7 тыс. п.н. (Да-

нилов и др., 2002). Диапазон исследуемых концентраций варьировал от 10^{-1} до $10^{-5}\%$. Сенсор добавляли к испытуемым растворам в соотношении 1:1. Биолюминесценцию измеряли на многофункциональном микропланшетном ридере Tecan infinite M200 (Швейцария) каждые 10 минут в течение трех часов инкубирования. Индекс токсичности (ИТ) рассчитывали по формуле $ИТ = 100 \times (I_0 - I) / I_0$, где I_0 и I соответственно интенсивность свечения контроля и опыта. Строили график зависимости уровня биолюминесценции от %-ного содержания MeC НК Cu в двойной логарифмической системе координат (Максимова и др., 2016) и определяли принятый в токсикологии параметр EC_{50} (median effective concentration), соответствующий концентрации раствора, при которой происходит ингибирование свечения сенсора на 50%.

Экспериментальные данные обработаны статистически согласно общепринятым методам с использованием программы Microsoft Office Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценку токсичности наноматериала проводили с использованием семян высших растений и бактериального сенсора «Эколюм-8» в качестве тест-объектов.

При изучении биотоксичности MeC НК Cu с использованием семян овощных и злаковых культур (редиса, пшеницы) существенного изменения энергии прорастания и всхожести семян не обнаружено. Отмечено, что семена редиса обладали лучшими посевными качествами, чем семена пшеницы. Выявлено достоверное ингибирование роста (на 54.6%) корневой системы редиса после обработки семян 0.1%-ным раствором наноматериала (таблица). Слабое стимулирующее влияние на развитие корней редиса оказывал препарат в концентрации $1 \times 10^{-8}\%$ (на 11.3%).

Биометрические показатели проростков редиса и пшеницы после обработки семян различными концентрациями MeC НК Cu, мм

Вариант опыта	Объект		
	редис, корень	пшеница	
		корень	колеоптиль
Дистиллированная вода	46.9	55.0	51.7
MeC НК Cu 0.1%	21.3*	16.6*	20.7*
MeC НК Cu 0.01%	41.1	43.8*	53.6
MeC НК Cu 0.0001%	45.0	56.9	53.3
MeC НК Cu 0.000001%	44.4	55.5	51.5
MeC НК Cu 0.00000001%	52.2	57.6	54.6
НСР ₀₅	6.2	6.9	6.0

Примечание. * различия статистически значимы по сравнению с контролем ($p = 0.05$).

Показатель средней длины корней яровой пшеницы существенно снижался по сравнению с контролем при обработке семян наноккомпозитом в концентрации 0.1 и 0.01%, уменьшение составило 30.2 и 79.6% соответственно. Стимулирующее влияние на корневую систему не отмечено. На развитие надземной части проростков пшеницы препарат также не оказывал влияния, за исключением подавления роста на 60.0% в варианте с обработкой 0.1%-ным раствором MeC НК Cu. Ранее в

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ МЕТАЛЛ/УГЛЕРОДНОГО НАНОКОМПОЗИТА МЕДИ

исследованиях с *Vitis vinifera* Linnaeus, 1753 нами было выявлено стимулирующее действие Me/C НК Cu на корнеобразование при зеленом черенковании, улучшались показатели количества развившихся корней, суммарной длины и средней длины одного корня на черенок (Федоров и др., 2017).

Согласно МУ 1.2.2635-10 (Методические указания..., 2010 а), если, по сравнению с контрольными, семена в исследуемых образцах не проросли или же длина корней в процентах от контрольного значения менее 70%, то образец наноматериала считается токсичным. При длине корней в опыте свыше 120% от контроля предполагается, что исследуемый образец обладает стимулирующими свойствами. Таким образом, рассмотренный MeC НК Cu является токсичным только в концентрации 0.1%. Стимулирующего влияния на проростки семян высших растений при изученных концентрациях не обнаружено.

В качестве еще одной тест-системы для оценки безопасности наноматериала использовали бактериальный сенсор «Эколюм-8». Предварительный контроль качества оценки токсичности проводили по определению чувствительности тест-организма к модельному токсиканту $ZnSO_4 \times 7H_2O$ (рис. 1). Расчет производили на ионы цинка. В случае использования обеих концентраций (0.909 и 0.5 мг/л Zn^{2+}) происходило более чем 50%-ное ингибирование интенсивности биолюминесценции по сравнению с контролем.

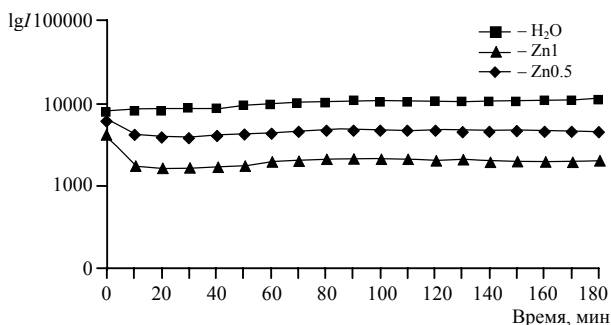


Рис. 1. Интенсивность свечения (lgI) штамма *E. coli* K12 TG1 *lux+* в присутствии модельного токсиканта. По оси абсцисс – время контакта, мин; по оси ординат – регистрируемые значения интенсивности свечения (I)

Результаты регистрации свечения сенсорного штамма в суспензиях MeC НК Cu свидетельствовали о формирующемся уже на первых минутах контакта снижении интенсивности биолюминесценции (рис. 2). В вариантах с высокой концентрацией MeC НК Cu наблюдались сильные колебания регистрируемого свечения. Скорее всего, это связано с физико-химическими и оптическими свойствами наноматериала, когда частицы препятствуют прохождению сигнала от сенсора к фотоприемнику (Дерябин и др., 2012). По мере разведения НК интенсивность свечения изменялась незначительно. Интересно, что по истечении 3 часов контакта не наблюдалось собственное тушение свечения бактериального сенсора в контрольных пробах, как отмечают Е. С. Алешина и Е. А. Дроздова (2015). Соль меди ($CuSO_4$) в концентрации 0.1% оказалась сильно токсичной для *E. coli* K12 TG1.

Для определения интегральной токсичности суспензий наноматериала вычисляли ИТ на 30, 60, 120 и 180 мин (рис. 3). Все исследуемые концентрации НК оказались сильно токсичными (ИТ > 70%).

Для определения величины токсикологического параметра EC_{50} , соответствующего концентрации вещества, вызывающей 50% ингибирование свечения сенсорного микроорганизма по сравнению с контролем, строили калибровочные графики зависимости гашения биолюминисценции тест-штамма *E. coli* K12 TG1 от концентрации раствора НК (рис. 4). Значение этого параметра оказалось ниже минимальной тестируемой концентрации ($< 0.00001\%$). Вероятный показатель токсичности рассчитывали по уравнению, описывающему линию тренда. Значение EC_{50} оказалось равным 0.016 мкг/мл.

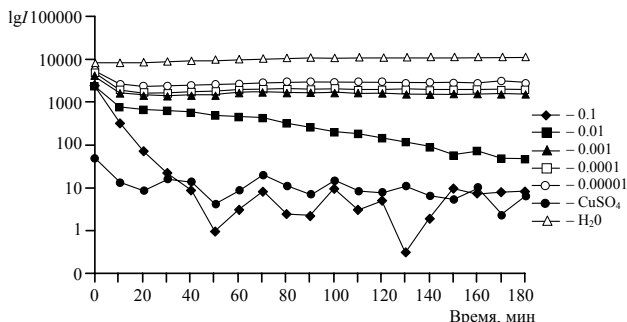


Рис. 2. Динамика свечения *E. coli* K12 TG1 *lux+* при контакте с суспензией наноконтроля меди в различных концентрациях (%)

В работе Д. Г. Дерябина, Е. С. Алешинной и Л. В. Ефремовой (2012) авторы предлагают использовать модифицированную формулу для расчета ИТ, которая устраняет влияние оптических свойств наноматериалов на результат биотестирования: $ИТ = (I_{0min} \times I_{0min}) / (I_{min} \times I_{0min})$. Используя этот подход, получили значения $ИТ < 0.5$, что также говорит о высокой токсичности MeC НК Cu в исследуемых концентрациях.

Известно, что наночастицы металлов, таких как серебро и медь, обладают противомикробными свойствами и эффективны против широкого спектра бактерий (Ruparelia et al., 2008). Л. А. Тамайо с соавторами (2015) установлено, что композит наночастиц меди и полиэтилена (copper – polyethylene nanocomposite) эффективен против клеток *E. coli*. Бицидная способность наноконтроля заключается в повреждении цитоплазматической мембраны бактерии, т.е. наблюдается бактериолитический эффект. В то же время данный наноматериал не оказывал цитотоксического действия на линии клеток нейробластомы человека, что позволит использовать его в медицине.

Группой российских ученых проведено комплексное изучение влияния токсичности углеродного наноструктурного материала «Таунит» на различные тест-объекты – бактерии, микроскопические гидробионты, высшие растения, млекопитающих (Гусев и др., 2010). По результатам исследования препарат отнесли к 3–4-му классу опасности. При этом

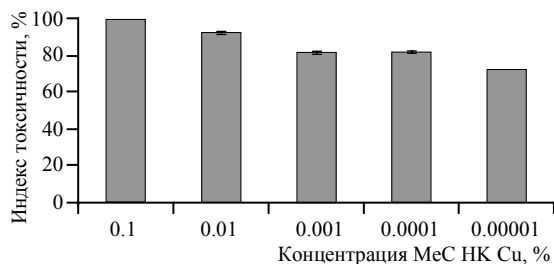


Рис. 3. Индекс токсичности суспензии металл/углеродного наноконтроля меди в различных концентрациях через 30 мин контакта с сенсором *E. coli* K12 TG1

наименьшую резистентность проявили тест-объекты *Scenedesmus quadricauda* Hegewald, 1977 и *E. coli*. Коллоидный водный раствор «Таунита» оказывал подавляющее действие на процессы раннего вегетативного онтогенеза пшеницы, гороха

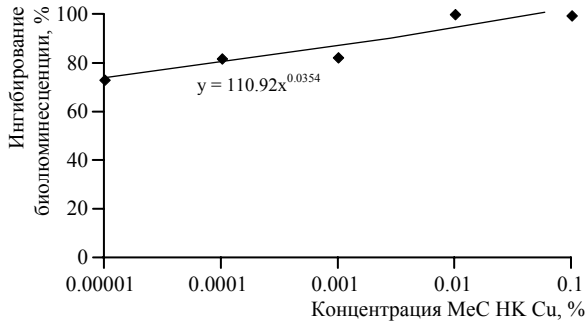


Рис. 4. Построение калибровочного графика для определения токсичности MeC НК Cu через 30 мин контакта

и подсолнечника, что выразилось в снижении ростовых показателей и запаздывании развития по сравнению с контрольной группой. Зафиксирован также положительный эффект «Таунита» на всхожесть семян и на защищенность их от гниения. Последнее авторы связали с подавляющим действием наноматериала на развитие микроорганизмов.

В исследовании А. А. Рахметовой (2011) показано, что наночастицы меди, с одной стороны, обладают слабой токсичностью по отношению к грызунам, с другой стороны, проявляют высокий антимикробный эффект по отношению к клеткам тест-культур грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, что создает предпосылки для использования их в составе раназаживляющих препаратов.

ВЫВОДЫ

Таким образом, в результате биотестирования установлено, что действие наноконкомпозита меди на живые организмы различно и зависит от биологического объекта. Так, на семенах высших растений данный наноматериал оказался токсичным в концентрации 0.1%. Стимулирующий эффект обнаружен только на развитие корней редиса при концентрации препарата $1 \times 10^{-8}\%$ (на 11.3%), однако он был несущественным. В то же время при использовании бактериального сенсора *E. coli* K12 TG1 с клонированным *lux*-опероном *P. luminescens* все исследуемые концентрации оказались сильно токсичными (ИТ > 70%). Вероятное значение токсикологического показателя EC_{50} оказалось равным 0.016 мкг/мл.

Анализ существующих исследований показывает перспективность использования бактерицидной активности медных наночастиц ввиду их невысокой себестоимости и сравнительно низкой экологической опасности (Гульченко и др., 2014).

Авторы выражают благодарность старшему научному сотруднику Лаборатории природоохранных и ресурсосберегающих технологий Института механики УрО РАН, доктору физико-технических наук В. В. Тринеевой, руководителю группы Научно-инновационного центра ОАО «ИЭМЗ «Купол» Ю. В. Першину за предоставленный для исследований металл/углеродный наноконкомпозит меди; заведующему Лаборатории иммунорегуляции Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, доктору медицинских наук, профессору С. В. Ширшеву, старшему научному сотруднику, кандидату биологических наук И. Л. Масленниковой за предоставление бактериального сенсора «Эколюм-8».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абраменко Н. Б.* Исследование и моделирование токсического действия наночастиц серебра на гидробионтах : дис... канд. хим. наук. М., 2017. 122 с.
- Алешина Е. С., Дроздова Е. А.* Оценка биотоксичности углеродных нанотрубок с использованием биотестов на основе люминесцирующих микроорганизмов // Вестн. Оренб. гос. ун-та. 2015. № 10 (185). С. 126 – 129.
- Астафурова Т. П., Моргалёв Ю. Н., Зотикова А. П., Верхотурова Г. С., Михайлова С. И., Буренина А. А., Зайцева Т. А., Постовалова В. М., Цыцарева Л. К., Боровикова Г. В.* Влияние наночастиц диоксида титана и оксида алюминия на морфологические параметры растений // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. 2011. № 1(13). С. 113 – 122.
- Гульченко С. И., Гусев А. А., Захарова О. В.* Перспективы создания антибактериальных препаратов на основе наночастиц меди // Вестн. Тамб. ун-та. Сер. Естественные и технические науки. 2014. Т. 19, вып. 5. С. 1397 – 1399.
- Гусев А. А., Зайцева О. Н., Полякова И. А., Горшенева Е. Б., Емельянов А. В., Шутова С. В., Романцова С. В., Семилетова С. В., Ткачев А. Г., Пиляшенко Н. Е.* Предварительные результаты комплексного биотестирования углеродного наноматериала – перспективного носителя лекарственных препаратов // Вестн. Тамб. ун-та. Сер. Естественные и технические науки. 2010. Т. 15, вып. 5. С. 1538 – 1540.
- Данилов В., Зарубина А., Ерошников Г., Соловьева Л. Н., Карташев Ф. В., Завильгельский Г. Б.* Сенсорные биолюминесцентные системы на основе lux-оперонов разных видов люминесцентных бактерий // Вестн. МГУ. Сер. 16, Биология. 2002. № 3. С. 20 – 24.
- Дерябин Д. Г., Алешина Е. С., Ефремова Л. В.* Применение теста ингибирования бактериальной биолюминесценции для оценки биотоксичности углеродных наноматериалов // Микробиология. 2012. Т. 81, № 4. С. 532 – 538.
- Максимова А. В., Кузнецова М. В., Демаков В. А.* Влияние синтетических нитрилов на морфологию и жизнеспособность некоторых видов бактерий // Изв. РАН. Сер. биологическая. 2016. № 6. С. 631 – 637.
- Маслоброд С. Н., Миргород Ю. А., Бородин В. Г., Борщ Н. А.* Влияние водных дисперсных систем с наночастицами серебра и меди на прорастание семян // Электронная обработка материалов. 2014. Т. 50, № 4. С. 103 – 112.
- Методические указания МУ 1.2.2635-10 «Гигиена, токсикология, санитария. Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов». М. : Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010 а. 123 с.
- Методические указания МУ 1.2.2634-10 «Микробиологическая и молекулярно-генетическая оценка воздействия наноматериалов на представителей микробиоценоза». М. : Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010 б. 59 с.
- Рахметова А. А.* Изучение биологической активности наночастиц меди, различающихся по дисперсности и фазовому составу : автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2011. 25 с.
- Федоров А. В., Леконцева Т. Г., Зорин Д. А., Худякова А. В., Тринеева В. В.* Эффективность медь/углеродного нанокompозита в качестве стимулятора корнеобразования на зеленых черенках винограда культурного // Современные научные исследования и разработки. 2017. Вып. 7 (15). С. 345 – 347.
- Ruparelia J. P., Chatterjee A. K., Dutttagupta S. P., Mukherji S.* Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles // Acta Biomaterialia. 2008. Vol. 4, iss. 3. P. 707 – 716.
- Tamayo L. A., Zapata P. A., Rabagliati F. M., Azócar M. I., Muñoz L. A., Zhou X., Thompson G. E., Paez M. A.* Antibacterial and non-cytotoxic effect of nanocomposites based in polyethylene and copper nanoparticles // J. Materials Science: Materials in Medicine. 2015. Vol. 26, iss. 3. P. 129. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10856-015-5475-6>

**ESTIMATION OF THE TOXICITY OF A METAL/
CARBON NANOCOMPOSITE OF COPPER BY BIOTESTING**

Anna V. Khudyakova, Tatyana G. Lekontseva, and Alexander V. Fedorov

*Udmurt Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences
34 T. Baramzina Str., Izhevsk 426067, Russia
E-mail: khudyakova.ana@yandex.ru*

Received 5 March 2018, revised 22 May 2018, accepted 18 June 2018

Khudyakova A. V., Lekontseva T. G., Fedorov A. V. Estimation of the Toxicity of a Metal/Carbon Nanocomposite of Copper by Biotesting. *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2018, no. 3, pp. 340 – 348 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1684-7318-2018-3-340-348>

The toxic effect of a metal/carbon copper nanocomposite (Me/C Cu NC) on higher plant seeds and the bacterial sensor “Ecolum-8” was evaluated. A significant inhibitory effect of 0.1% nanomaterial on the seedlings of radish seeds was established. Some stimulating effect on the development of the roots of this culture was found at a concentration of $1 \cdot 10^{-8}$ %, but it was insignificant (by 11.3%). When wheat was used as a test object, its root growth was inhibited when the seeds were treated with the nanocomposite at a concentration of 0.1 and 0.01% (a decrease of 30.2 and 79.6%, respectively). No stimulating effect on the wheat root system was revealed. The preparation also had no effect on the development of the aerial part of wheat seedlings, with the exception of 60.0% growth inhibition in the option of treatment with a 0.1% MeC Cu NC solution. Lyophilized cells of *Escherichia coli* K12 TG1 strain (pXen7) containing the full *lux*-operon of *Photobacterium luminescens* were used as a second biotesting object. Based on bioluminescence analysis, it was found that all studied concentrations of the copper nanocomposite were highly toxic for the bacterial strain (the toxicity index >70%). The value of the toxicological parameter EC_{50} , corresponding to the concentration of the substance that causes 50% inhibition of the luminescence of the sensory microorganism as compared with the control, turned out to be lower than the minimum tested concentration of the MeC Cu solutions. The calculation was made mathematically, and the probable value of EC_{50} was equal to 0.016 $\mu\text{g} / \text{ml}$.

Key words: biotesting, higher plant seeds, bioluminescence, bacterial sensor “Ecolum-8”.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1684-7318-2018-3-340-348>

REFERENCES

- Abramenko N. B. *Issledovanie i modelirovanie toksicheskogo dejstviya nanochastich serebra na gidrobiontah* [Research and modeling of the toxic effect of silver nanoparticles on hydrobionts]. Diss. Cand. Sci. (Chem). Moscow, 2017. 122 p. (in Russian).
- Aleshina E. S., Drozdova E. A. Biototoxicity assessment of carbon nanotubes using biotests based on luminescent microorganisms. *Vestnik of the Orenburg State University*, 2015, no. 10 (185), pp.126 – 129 (in Russian).
- Astafurova T. P., Morgalyov Yu. N., Zotikova A. P., Verhoturova G. S., Mihajlova S. I., Burenina A. A., Zajceva T. A., Postovalova V. M., Cycareva L. K., Borovikova G. V. Effect of

nanoparticles of titanium dioxide and aluminum oxide on some morphophysiological characteristics of plants. *Tomsk State University J., Biological Ser.*, 2011, vol. 13, no. 1, pp. 113–122 (in Russian).

Gulchenko S. I., Gusev A. A., Zaharova O. V. Prospects for creation antibacterial preparations based on copper nanoparticles. *Tambov University Reports, Ser. Natural and Technical Sciences*, 2014, vol. 19, iss. 5, pp. 1397–1399 (in Russian).

Gusev A. A., Zajceva O. N., Polyakova I. A., Gorsheneva E. B., Emel'yanov A. V., Shutova S. V., Romancova S. V., Semiletova S. V., Tkachev A. G., Pilyashenko N. E. Preliminary results of complex biotesting of carbon nanomaterial – perspective carrier of medical drug. *Tambov University Reports, Ser. Natural and Technical Sciences*, 2010, vol. 15, iss. 5, pp. 1538–1540 (in Russian).

Danilov V., Zarubina A., Eroshnikov G., Solov'eva L. N., Kartashev F. V., Zavit'gel'skij G. B. Sensory bioluminescent systems based on lux operons of various types of luminescent bacteria. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, 2002, no. 3, pp. 20–24 (in Russian).

Deryabin D. G., Aleshina E. S., Efremova L. V. Application of the inhibition of bacterial bioluminescence test for assessment of toxicity of carbon-based nanomaterials. *Microbiology*, 2012, vol. 81, no. 4, pp. 492–497.

Maksimova A. V., Kuznetsova M. V., Demakov V. A. The impact of synthetic nitriles on the morphology and viability of some bacterial species. *Biology Bulletin*, 2016, vol. 43, no. 6, pp. 547–553. DOI: <https://doi.org/10.7868/S0002332916050064>

Maslobrod S. N., Mirgorod Yu. A., Borodina V. G., Borshch N. A. Effect of aqueous dispersion systems with silver and copper nanoparticles on seed germination. *Elektronnaya obrabotka materialov*, 2014, vol. 50, no. 4, pp. 103–112 (in Russian).

Metodicheskie ukazaniya MU 1.2.2635-10 "Gigiena, toksikologiya, sanitariya. Mediko-biologicheskaya ocenka bezopasnosti nanomaterialov" [Hygiene, toxicology, sanitation. Medical and biological assessment of the safety of nanomaterials]. Moscow, 2010 a. 123 p. (in Russian).

Metodicheskie ukazaniya MU 1.2.2634-10 "Mikrobiologicheskaya i molekulyarnogeneticheskaya ocenka vozdejstviya nanomaterialov na predstavitelej mikrobiocenoza" [Microbiological and molecular genetics assessment of the impact of nanomaterials on representatives of the microbiocenosis]. Moscow, 2010 b. 59 p. (in Russian).

Rahmetova A. A. *Izuchenie biologicheskoy aktivnosti nanochastich medi, razlichayushchihnya po dispersnosti i fazovomu sostavu* [The study of the biological activity of copper nanoparticles, differing in dispersion and phase composition]. Thesis Diss. Cand. Sci. (Biol). Moscow, 2011. 25 p. (in Russian).

Fedorov A. V., Lekonceva T. G., Zorin D. A., Hudyakova A. V., Trineeva V. V. Efficiency of copper/carbon nanocomposite as a root compound on green cuttings of grape vine (*Vitis vinifera* L.). *Modern Research and Development*, 2017, iss. 7 (15), pp. 345–347 (in Russian).

Ruparelia J. P., Chatterjee A. K., Duttagupta S. P., Mukherji S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomaterialia*, 2008, vol. 4, iss. 3, pp. 707–716.

Tamayo L. A., Zapata P. A., Rabagliati F. M., Azócar M. I., Muñoz L. A., Zhou X., Thompson G. E., Paez M. A. Antibacterial and non-cytotoxic effect of nanocomposites based in polyethylene and copper nanoparticles. *J. Materials Science: Materials in Medicine*, 2015, vol. 26, iss. 3, pp. 129. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10856-015-5475-6>