



УДК 57.043, 57.044, 574.522

## ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ УГЛЕРОДНОГО НАНОСТРУКТУРНОГО МАТЕРИАЛА<sup>1</sup>

**А.А. Гусев**<sup>1</sup>  
**А.В. Емельянов**<sup>1</sup>  
**С.В. Шутова**<sup>1</sup>  
**А.Г. Ткачев**<sup>2</sup>  
**А.Ю. Годымчук**<sup>3</sup>  
**Д.В. Кузнецов**<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Тамбовский государственный  
университет имени Г.Р. Державина  
Россия, 392000, г. Тамбов,  
ул. Интернациональная, 33  
E-mail: nanoposecurity@mail.ru

<sup>2</sup> ООО «НаноТехЦентр»  
Россия, 392000,  
г. Тамбов, ул. Советская, 51

<sup>3</sup> Томский политехнический университет  
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

<sup>4</sup> Национальный исследовательский  
технологический университет "МИСиС"  
Россия, 119049, г. Москва, Ленинский пр., 4,  
подр. 217

Проведена оценка острого токсического действия промышленно производимого углеродного наноструктурного материала (многостенных углеродных нанотрубок) на перифитный, одноклеточные зеленые водоросли и бактерии. Установлено, что исследуемый наноматериал относится к III классу опасности для окружающей природной среды (умеренно опасные вещества). Организмами, наиболее устойчивыми к действию наноматериала, оказались перифитный, наименее устойчивыми – микроводоросли и бактерии. Показано, что безопасные концентрации углеродного наноматериала в водной среде лежат в диапазоне ниже 2 мг/л.

Ключевые слова: наноматериалы, многостенные углеродные нанотрубки, экотоксикология, ксенобиотики.

### Введение

Нанотехнологии, как одно из главных направлений развития современной науки и техники, в ближайшем будущем способны принести результаты, сопоставимые с теми, что были достигнуты за несколько последних десятилетий [1]. Уже сейчас в мире производятся тысячи тонн обладающих уникальными свойствами наноструктурных материалов, при этом наблюдается устойчивая тенденция к росту их производства.

В то же время нарастает угроза со стороны наноматериалов как нехарактерных для живой природы мелкодисперсных поллютантов с малоизученными токсикологическими свойствами [2].

Источниками их поступления в окружающую среду являются потребительские продукты наноиндустрии, крупнотоннажные нанотехнологические производства, а также многочисленные экспериментальные производства и научные лаборатории, в которых идут синтез и исследование свойств наноматериалов. Кроме того, такие производственные процессы, как, например, сварка, также сопровождаются значительным выделением в атмосферу техногенных наночастиц [3].

Промышленные наноматериалы могут попасть в окружающую среду разными путями на протяжении всего жизненного цикла наносодержащей продукции – получения, обработки, перевозки, использования и утилизации [4].

После попадания в гидросферу в составе сточных вод или из воздуха промышленные наночастицы в первую очередь могут поступать в организм гидробионтов – зоо- и фитопланктона, рыб, донных беспозвоночных. Находясь в основании пищевых цепей, они являются важнейшей категорией организмов, подвергаемых экотоксикологическому воздействию со стороны наноразмерных материалов [5]. Многочисленные бактерии, участвующие в поддержании стабильности экосистем, также являются

<sup>1</sup> НИР проведена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (Госконтракты № 14.740.11.0956 от 29.04.2011 г. и № 16.740.11.01-94 от 24.09.2010 г.)



потенциальной «группой риска» по отношению к промышленным наноматериалам, зачастую имеющим выраженный антибактериальный эффект [6].

Таким образом, для оценки экотоксикологических свойств промышленно производимых наноматериалов представляется оправданным выбор тест-объектов, относящихся к указанным группам, а именно ракообразных «фильтраторов» – цериодафний, компонента фитопланктона – одноклеточных зеленых водорослей и бактерий кишечной палочки, одного из наиболее распространенных тест-объектов в биологических исследованиях.

В последние годы, в свете необходимости управления рисками, связанными с производством и оборотом продукции наноиндустрии, появился ряд научных публикаций, посвященных оценке воздействия наноматериалов, в частности углеродных, на живые организмы. Помимо исследований токсических эффектов на клеточных культурах и млекопитающих [7, 8, 9], проводится биотестирование промышленных наноматериалов на гидробионтах и бактериях.

Например, показано проникновение и накопление многостенных углеродных нанотрубок в пищеварительном тракте ракообразного *Daphnia magna* [10]. Имеются данные об адгезии наночастиц фуллерена C<sub>60</sub> на поверхности тела ракообразных-паразитов *Acartia tonsa* [11]. При этом наблюдались нарушения поведения и физиологии испытуемых организмов: особи сталкивались со стенками посуды, плавали кругами на поверхности, изменялась частота ударов сердца, снижалось количество потомства, задерживалась линька. Высказываются предположения о связи этих явлений с адгезией наночастиц [12]. Показано, что функционализация наночастиц фуллерена C<sub>60</sub>, вводимого в среду обитания рачков *Daphnia pulex*, способствует активации у последних антиоксидантных ферментов глутатион-S-трансферазы и каталазы, что свидетельствует о развитии окислительного стресса [13]. Модификация многостенных углеродных нанотрубок полиэтиленгликолем, повышающим их диспергируемость в воде, также способствовала повышению смертности ракообразных [14].

Развитием окислительного стресса авторы исследования [15] объясняют повреждение клеток мозга рыб *Micropterus salmoides* фуллеренами. На рыбах *Pimephales promelas* показано значительное уменьшение содержания пероксисомного белка липидного транспорта PMP70 после введения в среду обитания фуллерена C<sub>60</sub>, что может указывать на нарушение липидного обмена [12]. В работе [16] показана задержка развития эмбрионов рыб *Danio rerio* при введении в среду неочищенных одностенных и двустенных углеродных нанотрубок. Токсический эффект авторы связывают с действием остатков кобальто-никелевого катализатора на нанотрубках.

Известны исследования токсичности наночастиц на водорослях. Так, в работе [17] на пресноводной зеленой водоросли *Pseudokirchneriella subcapitata* показан токсический эффект наночастиц TiO<sub>2</sub>, зависящий от размера частиц и повышающийся в присутствии ионов кадмия, что может указывать на синергетический эффект двух токсикантов.

Значительное количество работ посвящено антибактериальному действию наноматериалов, в частности, углеродных нанотрубок, поскольку это может найти практическое применение в создании бактерицидных поверхностей, фильтров и т.п. [18, 19, 20]. В исследовании [21] на культуре *Escherichia coli* показана зависимость антибактериального эффекта углеродных нанотрубок от диаметра, при этом одностенные нанотрубки оказались токсичнее многостенных. Похожие результаты получены в работе [22]: оценка цитотоксичности четырех углеродных наноматериалов: одностенных и многостенных углеродных нанотрубок, фуллерена C<sub>60</sub> в водной фазе и коллоидного графита продемонстрировала, что для монокультур *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* и *Staphylococcus epidermis*, а также для разнообразных микробных сообществ речных и сточных вод наиболее токсичными являются одностенные углеродные нанотрубки.

Отмечается зависимость антибактериального эффекта одностенных углеродных нанотрубок от длины [23], физико-химической модификации, включая окисление, функционализацию и прокаливание, а также степени диспергированности в рас-



творе [24]. Интересные результаты продемонстрированы в работе [25]: авторами установлено, что электронная структура одностенной углеродной нанотрубки (т.е. тип проводимости – металлический или полупроводниковый) является фактором, определяющим антибактериальную активность. Наблюдалось снижение жизнеспособности бактерий *Escherichia coli* с увеличением фракции «металлических» одностенных углеродных нанотрубок.

Среди предполагаемых механизмов цитотоксичности углеродных нанотрубок – мембранный стресс, то есть, прямой контакт нанотрубки с бактерией, приводящий к повреждению мембраны и выходу наружу внутриклеточного содержимого, а также развитие окислительного стресса [25].

Таким образом, токсическое действие наноматериалов на гидробионты и бактерии в значительной степени зависит не от химической природы материала, а от разнообразных структурных особенностей. В связи с этим, определение степени опасности наноматериалов по аналогии с уже изученными образцами может дать искаженные результаты и привести к негативным последствиям для окружающей среды и здоровья человека в ходе производства, транспортировки, хранения, эксплуатации и утилизации продукции nanoиндустрии. Поэтому необходимой представляется экотоксикологическая оценка каждого из промышленно-производимых наноматериалов.

### Объекты и методы исследования

Объект исследования – углеродный наноматериал «Таунит» (УНМ «Таунит», многостенные углеродные нанотрубки), производимый в промышленных масштабах ООО «НаноТехЦентр» (г. Тамбов). Данный материал представляет собой одномерные, наномасштабные, нитевидные образования поликристаллического графита, цилиндрической формы с внутренним каналом, в виде сыпучего порошка черного цвета. Гидрофобен, химически инертен, чистота – более 98%. Гранулы УНМ микрометрических размеров имеют структуру спутанных пучков многостенных трубок, способ получения – газофазное химическое осаждение на металлическом катализаторе (ГФХО) или CVD-процесс. «Таунит» является перспективным материалом для авиационной, атомной, космической промышленности, медицины, фармацевтики, для производства суперкомпьютеров, видеотехники, плоских экранов, мониторов, фильтров широкого назначения. Добавка УНМ «Таунит» улучшает качество смазок, конструкционных композиций, строительных материалов. Гранулы «Таунита» могут служить носителями катализаторов или лекарственных препаратов, также в качестве адсорбентов, источников холодной эмиссии электронов [26]. В таблица 1 представлена характеристика исследуемого углеродного наноматериала.

Таблица 1

#### Характеристика углеродного наноматериала «Таунит»

Характеристика	Значение
Наружный диаметр, нм	10-60
Внутренний диаметр, нм	10-20
Длина, $\mu\text{m}$ (микрометров)	2 и более
Общий объем примесей (%), в т.ч. аморфный углерод	до 1,5 0,3-0,5
Насыпная плотность, г/см <sup>3</sup>	0,4-0,5
Удельная геометрическая поверхность, м <sup>2</sup> /г	120 и более
Термостабильность (°C)	до 700
Средний объем пор, см <sup>3</sup> /г	0,22
Средний размер пор, А	70

В качестве методик исследования были выбраны распространенные в экотоксикологии методы определения токсичности по изменению показателей смертности и плодовитости цериодафний, одноклеточных зеленых водорослей и геномодифицированных бактерий кишечной палочки [27, 28, 29]. Кроме того, методика биотестирования по гибели ракообразных *Ceriodaphnia affinis* [30] рекомендована для оценки безопасности наноматериалов.



Культивационные среды для биотестирования готовили согласно соответствующим методикам, при этом получение устойчивых коллоидных растворов углеродного наноматериала нужных концентраций достигалось при помощи ультразвуковой ванны.

Измерение интенсивности биолюминесценции осуществляли с помощью прибора «Биотокс-10».

Для поддержания постоянных условий культивации цериодафний и микроводорослей использовали климатическую камеру.

За окончательный результат принимался класс опасности, выявленный на тест-объекте, проявившем более высокую чувствительность к анализируемому токсиканту. Класс опасности устанавливался по кратности разведения водной вытяжки, при которой не выявлено воздействие на тест-объекты в соответствии с установленными диапазонами кратности разведения (таблица 2).

Таблица 2  
**Критерии отнесения токсикантов к классам опасности**

Класс опасности	Кратность разведения водного раствора тестируемого материала, при котором вредное воздействие на тест-объекты отсутствует
I	>10000
II	от 10000 до 1001
III	от 1000 до 101
IV	<100
V	1

Примечание: приводится по [31].

контроле гибель не превышала 10%. Для биотестирования использовали емкости объемом 30 мл, заполненные наполовину исследуемой жидкостью, в которые помещали по одной цериодафнии из синхронизированной культуры возрастом не более двух суток. Определение токсичности проводили в 10 емкостях для каждой из исследованных концентраций. Температуру поддерживали на уровне 22–24°C, освещенность составляла 900–1000 Лк. Содержание растворенного в воде кислорода в конце эксперимента составляло не менее 4 мг/дм<sup>3</sup>, уровень рН находился в пределах 7.0–7.3. Цериодафний кормили водорослевой суспензией, приготовленной согласно методике [27] перед началом эксперимента, а затем ежедневно по одному разу. Учет смертности в опытной и контрольной группах проводили каждый час до конца первого дня опыта, а затем два раза в сутки до окончания эксперимента. Неподвижных особей считали погибшими, если они не начинали двигаться в течение 15 секунд после покачивания стакана. Расчет полулетальных (ЛК<sub>50-48</sub>) и безвредных (БК<sub>10-48</sub>) концентраций вели с использованием пробит-анализа.

Методика определения токсичности на культуре зеленых протоккоковых водорослей (*Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Brebisson, 1835) основана на регистрации темпа роста (снижения численности) клеток водорослей под воздействием токсических веществ, (опыт) по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих токсических веществ (контроль). Устанавливалась острая токсичность или ингибирующая ингибирующая кратность разбавления (ИКР<sub>50-72</sub>) водных вытяжек, вызывающая снижение численности клеток водорослей на 50 % и более по сравнению с контролем за 72 часа экспозиции; безвредная (не вызывающую эффекта острой токсичности) кратность разбавления (БКР<sub>20-72</sub>) водных вытяжек, вызывающих снижение численности клеток водорослей не более чем на 20% по сравнению с контролем за 72 часа экспозиции.

Об угнетении водорослей в опыте по сравнению с контролем судили по снижению численности клеток водорослей через 72 часа от начала биотестирования.

Метод биотестирования по гибели цериодафний (*Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg, 1900) основан на установлении различия между количеством погибших цериодафний в анализируемой пробе, содержащей наноматериалы, (опыт) и культивационной воде (контроль).

Критерием острой летальной токсичности являлась гибель 50% цериодафний и более в опыте по сравнению с контролем за 48 часов биотестирования, при условии, что в



Для биотестирования использовали альгологически чистую культуру водорослей *Scenedesmus quadricauda*, находящуюся в экспоненциальной стадии роста (3–5 суток после посева). В стеклянные плоскодонные колбы вместимостью 250 см<sup>3</sup> наливали по 100 см<sup>3</sup> контрольной (дистиллированной воды с рН 7.0–7.5) и исследуемой жидкости. Повторность двукратная. Затем в каждую колбу пипеткой стерильно, над пламенем горелки добавляли по 0.1 см<sup>3</sup> раствора реактивов, согласно методике [28]. Содержимое колб перемешивали. Затем во все колбы добавляли равные объемы суспензии водорослей, с учетом того, чтобы численность клеток в них составила 25–35 тыс. кл./см<sup>3</sup>. После внесения водорослей колбы вновь перемешивали. Затем производили подсчет клеток водорослей в камере Горяева во всех контрольных и испытуемых пробах. В каждой колбе дважды подсчитывали численность клеток. Содержимое колб вновь перемешивали, закрывали стерильными ватно-марлевыми пробками и устанавливали в люминостат при температуре от +22°C до +25°C, освещенности 3000–10000 Лк, световой период – 24 часа. Клетки водорослей поддерживали во взвешенном состоянии в колбах путем встряхивания 1–2 раза в сутки, чтобы улучшить газообмен и сократить колебания водородного показателя за счет выделяющегося углекислого газа водорослями в исследуемых растворах.

Через 72 часа от начала биотестирования проводили подсчет численности клеток в камере Горяева в контрольных и опытных колбах. Численность водорослей в контроле увеличивалась не менее чем в 10 раз за 72 часа экспозиции. Изменение рН в конце эксперимента составляло не более 1.5.

При определении острого токсического действия для каждого разведения по результатам двух параллельных определений вычисляли среднее значение численности клеток по формуле:

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

где  $\bar{X}$  – среднее значение тест-параметра (уровня флуоресценции или численности клеток);  $X_i$  – значения тест-параметра в  $i$ -том параллельном определении;  $n$  – количество параллельных определений.

Рассчитывали относительное (в %) изменение численности клеток водорослей для каждого разведения по сравнению с контролем ( $I$ ):

$$I = \frac{\bar{X}_k - \bar{X}_o}{\bar{X}_k}$$

где  $\bar{X}_k$  – среднее значение тест-параметра в контроле,  $\bar{X}_o$  – среднее значение тест-параметра в опыте.

Характеристики степени токсичности испытуемой среды приведены в таблице 3.

#### Характеристики степени токсичности испытуемого раствора

Отклонение от контроля, %	Оценка
до 20	нетоксичная
от 50 и более	острая токсичность

Таблица 3

Стимуляцию (противоположная угнетению реакция тест-объектов на воздействие токсикантов) до уровня 30% по сравнению с контролем считали как нетоксичное действие испытуемой воды на тест-объект.

Значения ИКР<sub>50-72</sub> и БКР<sub>20-72</sub> рассчитывали с помощью пробит-анализа.

Исследование острой токсичности с использованием биосенсора «Эколюм» (культура люминесцентных генноинженерных бактерий *Escherichia coli*, 1885, М-17) основано на определении изменения интенсивности билюминесценции бактерий при воздействии токсикантов. Острое токсическое действие исследуемой пробы на препарат «Эколюм» определяли по гашению билюминесценции за 30-минутный период экспозиции. Для разбавления использовали дистиллированную воду, температура которой составляла 20°C, уровень рН находился в пределах 7.0–7.2. На 0.1 мл суспензии бактерий в кювету люминометра добавляли 0.9 мл тестируемого раствора или дистиллированной воды (контроль). На протяжении периода экспозиции в помещении поддерживали следующие условия: температура воздуха 20°C, относительная влажность воздуха не более 80%. Определение эффективной токсической концентра-

ции (ЭЛК<sub>50</sub>) и безвредной концентрации (ЭБК<sub>20</sub>) вели по показаниям прибора «Биотокс-10».

### Результаты и их обсуждение

По результатам биотестирования углеродного наноструктурного материала «Таунит» на тест-объекте – цериодафнии установлено, что водная вытяжка из углеродного наноматериала «Таунит» оказывает токсическое действие на тест-объект-цериодафний без разведения и в разведении в 10 раз. При разведении в 100 раз (концентрация 1%) водная вытяжка не оказывает токсического действия. Безвредная кратность разведения < 100 раз, следовательно, испытуемый материал относится к IV классу опасности для окружающей природной среды (ОПС).

Биотестирование углеродного наноструктурного материала «Таунит» на тест-объекте – *Scenedesmus quadricauda* показало, что наноматериала оказывает токсическое действие на тест-объект *Scenedesmus quadricauda* в концентрациях 100% и 1%; в концентрации 0,1% (разведение в 1000 раз) водная вытяжка не оказывает токсического действия на тест-объекты. Безвредная кратность разведения водной вытяжки находится в интервале 101–1000 раз, что позволяет отнести испытуемый материал к III классу опасности для ОПС.

По итогам биотестирования углеродного наноструктурного материала «Таунит» на тест-объекте – биосенсор «Эколюм» установлено, что водная вытяжка из наноматериала оказывает токсическое действие на тест-систему «Эколюм» в концентрациях 100%, 10%, 1%, 0.5%, в концентрации 0.1% (разведение в 1000 раз) водная вытяжка не оказывает токсического действия. Безвредная кратность разведения водной вытяжки находится в интервале 101–1000 раз, следовательно, испытуемый материал относится к III классу опасности для ОПС.

Сводные результаты экспериментов отражены в таблице 4.

Таблица 4

#### Оценка воздействия углеродного наноматериала на тест-объекты

Тест-объект	Концентрация коллоидного раствора наноматериала (%); в скобках указана кратность разведения раствора водой					Класс опасности
	100 (1×)	10 (10×)	1 (100×)	0.1 (1000×)	0.01 (10000×)	
Цериодафнии	0	0	1	1	1	IV
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	0	0	0	1	1	III
Тест-система «Эколюм»	0	0	0	1	1	III

Примечание: 0 – гибель организмов, 1 – организмы выжили.

Таким образом, по результатам комплексного биотестирования установлено, что углеродный наноматериал «Таунит» относится к III классу опасности для ОПС (умеренно опасные вещества). Это соответствует классу опасности такого распространенного природного углеродного наноструктурного материала, как сажа. Относительно низкая токсичность многостенных углеродных нанотрубок согласуется с результатами других исследований [21, 22]

Механизмами токсического действия наноматериала может служить повреждение мембран клеток, окислительный стресс [25] или механическое воздействие агломератов наноматериала на органы дыхания в случае цериодафний [32].

Были проведены расчеты полулетальных и безвредных концентраций для используемых тест-объектов. При этом наименее чувствительными к действию наноматериала оказались цериодафнии, а наиболее чувствительными – бактерии и водоросли. Установлено, что безопасная для наиболее чувствительного из тест-объектов – микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* концентрация углеродного наноматериала «Таунит» в водной среде составляет 2 мг/л.



## Заключение

Таким образом, проведена оценка острого токсического действия промышленно производимого углеродного наноструктурного материала (многостенных углеродных нанотрубок) на цериодафний, одноклеточные зеленые водоросли и бактерии. Установлено, что исследуемый наноматериал относится к III классу опасности для окружающей природной среды (умеренно опасные вещества). Организмами, наиболее устойчивыми к действию наноматериала, оказались цериодафнии, наименее устойчивыми – микроводоросли и бактерии. Показано, что безопасные концентрации углеродного наноматериала в водной среде лежат в диапазоне ниже 2 мг/л.

Полученные результаты могут быть учтены при разработке норм безопасности при производстве, хранении, транспортировке, эксплуатации и утилизации продукции, содержащей углеродные наноматериалы.

## Список литературы

1. Фостер Л. Нанотехнологии. Наука, инновации, возможности. – М.: Техносфера, 2008. – 352 с.
2. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 31 октября 2007 г. N 79 г. Москва «Об утверждении Концепции токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов» / «Российская газета» – Федеральный выпуск № 4533 от 1 декабря 2007 г.
3. Лысцов В.Н., Мурзин Н.В. Проблемы безопасности нанотехнологий. – М., МИФИ, 2007. – 70 с.
4. Алексеева О. Новая дисциплина – нанотоксикология // Перспективные технологии. – 2007. – Т. 14. – № 19. – С. 2–4.
5. Baun A., Sorensen S.N., Rasmussen R.F., Hartmann N.B., Koch C.B. Toxicity and bioaccumulation of xenobiotic organic compounds in the presence of aqueous suspensions of aggregates of nano-C<sub>60</sub> // *Aquatic Toxicology*. – 2008. – V.86. – P. 379–387.
6. Neal A.L. What can be inferred from bacterium-nanoparticle interactions about the potential consequences of environmental exposure to nanoparticles? // *Ecotoxicology*. – 2008. – Vol. 17. – P.362–371.
7. Jia G., Wang H.F., Yan L., Wang X., Pei R.J., Yan T., Zhao Y.L., Guo X.B. Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nano-tube, multi-wall nanotube, and fullerene // *Environmental Science and Technology*. – 2005. – Vol. 39. – P. 1378–1383.
8. Kostarelos K. The long and short of carbon nanotube toxicity // *Nature Biotechnology*. – 2008. – Vol. 26. – №7, July. – P. 774–776.
9. Miyawaki J., Yudasaka M., Azami T. et al. Toxicity of Single-Walled Carbon Nanohorns // *Acsnano*. – 2008. – Vol. 2. – №2. – P. 213–226.
- Poland C. A., Duffin R., Kinloch I. et al. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestoslike pathogenicity in a pilot study // *Nature Nanotechnology*. – 2008. – Vol. 3. – July. – P. 423–428 [Zhao Yuliang, Xing Genmei, Chai Zhifang. Are carbon nanotubes safe? // *Nature Nanotechnology*. – 2008. – №4, March. – P. 191–192.
10. Zhu X., Zhu L., Chen Y., Tian S. Acute toxicities of six manufactured nanomaterial suspensions to *Daphnia magna* // *Journal of Nanoparticles Research*. – 2009. – Vol. 11. – P. 67–75.
11. Kusk K.O., Wollenberger L. Fully defined saltwater medium for cultivation of and toxicity testing with marine copepod *Acartia tonsa* // *Environment Toxicology and Chemistry*. – 1999. – Vol. 18. – P. 1564–1567.
12. Oberdorster E., Zhu S.Q., Blickey T.M., Clellan-Green P., Haasch M.L. Ecotoxicology of carbon-based engineered nanoparticles: effects of fullerene (C<sub>60</sub>) on aquatic organisms // *Carbon*. – 2006. – Vol. 44. – P. 1112–1120.
13. Klaper R, Crago J, Barr J, Arndt D, Setyowati K, Chen J. Toxicity biomarker expression in daphnids exposed to manufactured nanoparticles: changes in toxicity with functionalization // *Environ Pollut*. – 2009. – Vol. 157. № 4, Apr. – P. 1152–6. [Epub 2008 Dec 17].
14. Petersen EJ, Pinto RA, Mai DJ, Landrum PF, Weber WJ Jr. Influence of polyethyleneimine graftings of multi-walled carbon nanotubes on their accumulation and elimination by and toxicity to *Daphnia magna* // *Environ Sci Technol*. – 2011. – Vol. 45. – № 3. Feb 1. – P. 1133–8. [Epub 2010 Dec 23].
15. Oberdorster E. "Manufactured nanomaterials (Fullerenes, C-60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass" // *Environ. Health Perspect*. – 2004. – Vol. 112. – № 10. – P. 1058–1062.
16. Cheng, J.P., Flahaut, E. and Cheng, S.H. "Effect of carbon nanotubes on developing zebrafish (*Danio rerio*) embryos" // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 2007. – Vol. 26. № 4. – P. 708–716.

17. Hartmann, N.B., Von der Kammer, F., Hofmann, T., Baalousha, M., Ottofuelling, S., Baun, A. "Algal testing of titanium dioxide nanoparticles – Testing considerations, inhibitory effects and modification of cadmium bioavailability" // *Toxicology*. – 2010. – Vol. 269. – P. 190–197.
18. Chad D. Vecitis, Mary H. Schnoor, Md. Saifur Rahaman, Jessica D. Schiffman, and Menachem Elimelech. Electrochemical Multiwalled Carbon Nanotube Filter for Viral and Bacterial Removal and Inactivation // *Environ. Sci. Technol.* – 2011. – Vol. 45. № 8. – P. 3672–3679.
19. Seoktae Kang, Mathieu Pinault, Lisa D. Pfefferle, and Menachem Elimelech. Single-Walled Carbon Nanotubes Exhibit Strong Antimicrobial Activity // *Langmuir*. – 2007. – Vol. 23. № 17. – P. 8670–8673.
20. Jessica D. Schiffman and Menachem Elimelech. Antibacterial Activity of Electrospun Polymer Mats with Incorporated Narrow Diameter Single-Walled Carbon Nanotubes // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. – 2011. – Vol. 3. № 2. – P. 462–468.
21. Seoktae Kang, Moshe Herzberg, Debora F. Rodrigues and Menachem Elimelech. Antibacterial Effects of Carbon Nanotubes: Size Does Matter! // *Langmuir*. – 2008. – Vol. 24. – № 13. – P. 6409–6413.
22. Seoktae Kang, Meagan S. Mauter and Menachem Elimelech. Microbial Cytotoxicity of Carbon-Based Nanomaterials: Implications for River Water and Wastewater Effluent // *Environmental Science & Technology*. – 2009. – Vol. 43. – № 7. – P. 2648–2653.
23. Cheenou Yang, Jaouad Mamouni, Yongan Tang, and Liju Yang. Antimicrobial Activity of Single-Walled Carbon Nanotubes: Length Effect // *Langmuir*. – 2010. – Vol. 26. – № 20. – P. 16013–16019.
24. Seoktae Kang, Meagan S. Mauter and Menachem Elimelech. Physicochemical Determinants of Multiwalled Carbon Nanotube Bacterial Cytotoxicity // *Environ. Sci. Technol.* – 2008. – Vol. 42. – № 19. – P. 7528–7534.
25. Chad D. Vecitis, Katherine R. Zodrow, Seoktae Kang, and Menachem Elimelech. Electronic-Structure-Dependent Bacterial Cytotoxicity of Single-Walled Carbon Nanotubes // *ACS Nano*. – 2010. – Vol. 4. – № 9. – P. 5471–5479.
26. Ткачев А.Г., Золотухин И.В. Аппаратура и методы синтеза твердотельных наноструктур: монография / – М.: Изд-во Машиностроение-1, 2007. – 316 с.
27. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. Федеральный реестр (ФР) ФР.1.39.2007.03221. – М.: «АКВАРОС», 2007.
28. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей. Федеральный реестр (ФР) ФР.1.39.2007.03223. – М.: «АКВАРОС», 2007.
29. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции тест-системой «Эколюм». ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.11-04 16.1:2:3:3.8-04. – М., 2004 г.
30. Оценка безопасности наноматериалов *in vitro* и в модельных системах *in vivo*: Методические рекомендации. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 69 с.
31. Приказ МПР России от 15 июня 2001 г № 511 "Об утверждении критериев отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды" (не нуждается в государственной регистрации согласно заключению Минюста России от 24.07.2001 № 07/7483-ЮД; Природно-ресурсные ведомости, 2001, № 45)
32. Т.А. Колесникова, И.А. Фёдорова, А.А. Гусев, Д.А. Горин. Анализ острой токсичности полиэлектролитных микрокапсул, модифицированных наночастицами оксида цинка, и составляющих их компонентов на гидробионтах // *Российские нанотехнологии*. – 2011. – Т. 6. – № 3–4. – С. 64–73.

## ECOTOXICOLOGICAL RESEARCH OF CARBON NANOMATERIAL

**A.A. Gusev**<sup>1</sup> **A.V. Emeljanov**<sup>1</sup>  
**S.V. Shutova**<sup>1</sup> **A.G. Tkachev**<sup>2</sup>  
**A.J. Godymchuk**<sup>3</sup> **D.V. Kuznetsov**<sup>4</sup>

<sup>1</sup> G.R. Derzhavin Tambov State University  
 Internacjonalnaya St., 33, Tambov, 392000,  
 Russia

E-mail: nanosecurity@mail.ru

<sup>2</sup> LLC «NanoTechCenter»

Sovietskaya St., 51, Tambov, 392000, Russia

<sup>3</sup> Tomsk Polytechnical University

Lenina Str, 30, Tomsk, 634050, Russia

<sup>4</sup> National University of Science and Technology «MISIS»  
 Leninsky Av., 4, Moscow, B-49, 119049, Russia

The estimation of acute toxic action of industrially made carbon nanomaterial (multiwalled carbon nanotubes) on *Ceriodaphnia affinis*, *Scenedesmus quadricauda*, *Escherichia coli* is obtained. It is established that the investigated nanomaterial belongs to the III class of danger to the natural environment (moderately dangerous substances). *Ceriodaphnia affinis* appeared to be the most resistant to the toxic influence of the nanomaterial, microalgae and bacteria – the least resistant. It is shown that safe concentration of carbon nanomaterial in water medium lie in the range below 2 mg/l.

Key words: Nanomaterials, Multiwalled Carbon Nanotubes, Ecotoxicology, Xenobiotics.