

PACS numbers: 87.18.Vf, 87.85.M-, 87.90.+y, 88.20.D-, 88.20.F-, 88.20.dm

## Вплив розчину наночастинок оксиду Цинку на ріст *Chlamydomonas monadina* в культурі

В. Р. Петльована<sup>1</sup>, С. О. Кравченко<sup>2</sup>, П. М. Болтовець<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка,  
вул. Володимирська, 64/13,  
01601 Київ, Україна

<sup>2</sup>Інститут фізики напівпровідників ім. В. Є. Лашкарьова НАН України,  
просп. Науки, 41,  
03028 Київ, Україна

Досліджується вплив розчину наночастинок ZnO, одержаного методом об'ємного електроіскрового диспергування, на ріст мікродорості *Chlamydomonas monadina* в процесі її культивування. Розчини з високою (1 г/л) та низькою (0,02 г/л) концентрацією наночастинок ZnO пригнічують ріст клітин, в той час як використання розчину з помірною (0,2–0,5 г/л) концентрацією наночастинок приводить до збільшення кількості клітин *C. monadina* в культурі.

The influence of ZnO-nanoparticles' solution obtained by bulk electrospark dispersion on the *Chlamydomonas monadina* microalgae growth during its cultivation is studied. Solutions with high (1 g/l) and low (0.02 g/l) concentration of ZnO nanoparticles inhibit cell growth, while the solution with moderate (0.2–0.5 g/l) concentration causes the increase in *Chlamydomonas monadina* cell number in culture.

**Ключові слова:** наночастинок ZnO, об'ємне електроіскрове диспергування, мікродорості, культивування, *Chlamydomonas monadina*.

**Key words:** ZnO nanoparticles, bulk electrospark dispersion, microalgae, cultivation, *Chlamydomonas monadina*.

(Отримано 19 серпня 2020 р.; після доопрацювання — 18 грудня 2020 р.)

### 1. ВСТУП

На даний час відбувається формування та розвиток нової міждисциплінарної області знань — нанонауки та її прикладного роз-

ділу — нанотехнології. Фактично нанонаука знаходиться на перетині фізики, хемії та біології, характеризуючись особливим предметом дослідження, оскільки перехід від макрооб'єктів до нанорозмірних частинок приводить до якісних змін фізико-хемічних властивостей досліджуваних об'єктів [1]. Метою нанотехнології є створення нанорозмірних систем і композитних матеріалів із заданими та регульованими властивостями [2].

Наночастинки можна розглядати як проміжний стан речовини між атомним і звичайним її станом. Такі частинки характеризуються варіабельністю властивостей в залежності від їхнього розміру. Вони виявляють каталітичні, адсорбційні й оптичні властивості, відмінні від властивостей, притаманних тим самим речовинам на макрорівні [3].

Завдяки своєму невеликому розміру наночастинки можуть легко проникати в різноманітні біологічні структури. Біологічні властивості наночастинок можна розділити на дві групи: 1) наночастинки, що проявляють біоцидну дію та 2) наночастинки, які приводять до зміни функцій матеріялу [4]. Загалом, щороку з'являється все більше літературних даних про біотестування наночастинок. Але ці дані є суперечливими щодо впливу наноматеріалів і не дають чітких уявлень про дію наночастинок на рослині організми, оскільки наявні результати складно порівнювати як по дозах і розмірності наночастинок, так і по видах рослин.

Експериментальні дані щодо вивчення впливу наночастинок на ріст і розвиток мікроводоростей наразі достатньо обмежені [5–7]. Оскільки мікроводорості мають широкий спектр можливостей для практичного використання в медицині, фармакології та різних галузях промисловости, такі дослідження є актуальними, необхідними та важливими.

Наразі актуальним є питання щодо розроблення й удосконалення методів масового культивування мікроводоростей, в тому числі з використанням сучасних технологій, зокрема наночастинок.

Особливу увагу з точки зору біологічного застосування привертають наночастинки оксиду Цинку (НЧ ZnO) завдяки їхній біосумісності та низькій токсичності [8]. Крім того, НЧ ZnO характеризуються вираженими каталітичними та фотохемічними властивостями [9]. Біосумісність, низька токсичність і оптичні особливості цих НЧ, на нашу думку, матимуть виразний вплив на фотосинтезу в процесі росту мікроводоростей.

Наночастинки зазвичай одержують за допомогою диспергувальних і конденсаційних методів. В першому випадку НЧ формуються шляхом подрібнення об'ємної речовини до нанорозмірних агрегатів, тоді як суттю конденсаційного методу є одержання на-

ноколоїдних розчинів шляхом об'єднання (конденсації) молекул і йонів у нанорозмірні агрегати.

Найбільш популярним методом для одержання НЧ є метод електричного диспергування (метод Бредіґа), оскільки він має вагомні переваги серед всіх інших методів. Зокрема, цей метод дає можливість одержувати розчини наночастинок без додавання стабілізуювальних компонентів і зміни рН середовища. Електричне диспергування поєднує в собі переваги диспергуювального та конденсаційного методів одержання розчинів НЧ. Суть методу полягає у розпорошенні в електричній дузі металу електроди, яку розміщено у воді, з наступною конденсацією парів металу, що утворюються за високої температури. Більш широкого застосування набув метод Сведберґа, в якому для генерації електричної дуги між електродами використовується коливний розряд високої напруги [10].

Мета роботи полягає в дослідженні впливу розчину НЧ ZnO, одержаних методом об'ємного електроіскрового диспергування, на ріст і морфологію мікрободорости *Chlamydomonas monadina* var. *charkowiensis* Korsh у культурі.

## 2. МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

НЧ ZnO одержували методом об'ємного електроіскрового диспергування [11].

Одержані НЧ ZnO досліджувалися за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ, JEOL 1011, 100 kV).

Культуру мікрободорости *Chlamydomonas monadina* var. *charkowiensis*, було одержано з колекції культур мікрободоростей Київського національного університету імені Тараса Шевченка (АСКУ) [12]. Номер штаму: АСКУ 267-03.

Для культивування використовували рідке середовище «К» [13]. При візуальній оцінці стану культур (на макроскопічному рівні) враховували такі показники, як колір культури й інтенсивність забарвлення. Морфологічні відмінності між культурами досліджувалися за допомогою світлового мікроскопа марки Carl Zeiss Primo Star (збільшення об'єктива — 100×). Щільність клітин в культурі визначали за допомогою камери Горяєва.

Експеримент проводився в двох варіантах.

В першому варіанті до культури *C. monadina* у стандартному середовищі «К» додавали розчин НЧ ZnO для досягнення визначеної концентрації (1 г/л, 0,5 г/л, 0,2 г/л і 0,02 г/л).

Другий варіант передбачав культивування *C. monadina* на середовищі «К», в якому  $Zn^{2+}$  був пропорційно замінений наночастинками ZnO. Також було створено 2 контрольні лінії — культура на стандартному середовищі «К» та культура на середовищі

«К» без Цинку.

Культивування проводили на люміностаці з люмінесцентними лампами ЛБ-40 з 12-и годинним чергуванням світлової та темної фаз за температур  $+18-22^{\circ}\text{C}$  та перемішуванням культур раз на добу.

Облік кількості клітин проводився раз на три дні протягом 4 тижнів. Порівняльна аналіза чисельності клітин у дослідних і контрольних культурах проводилася на стадії стаціонарного росту культури.

### 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За допомогою методу об'ємного електроіскрового диспергування був одержаний колоїдний розчин пластівчастих НЧ ZnO з розмірами від 500 нм до 900 нм у поперечному перерізі (рис. 1).

Концентрація НЧ ZnO в одержаному розчині становила 5 г/л. Цей розчин надалі використовували для одержання модифікованих поживних середовищ.

На стадії стаціонарного росту в культурі *S. monadina* з концентрацією НЧ ZnO 1 г/л візуальної різниці між дослідною та контрольною культурами не спостерігалось. За морфологією клітин дослідної та контрольної ліній також не відрізнялися. Щільність клітин у дослідній культурі виявилася на 20% менше у порівнянні з контролем.

Візуальною оцінкою стану культури *S. monadina* з концентрацією в середовищі НЧ ZnO у 0,5 г/л було встановлено, що дослідна культура має більш інтенсивне забарвлення, ніж контрольна.

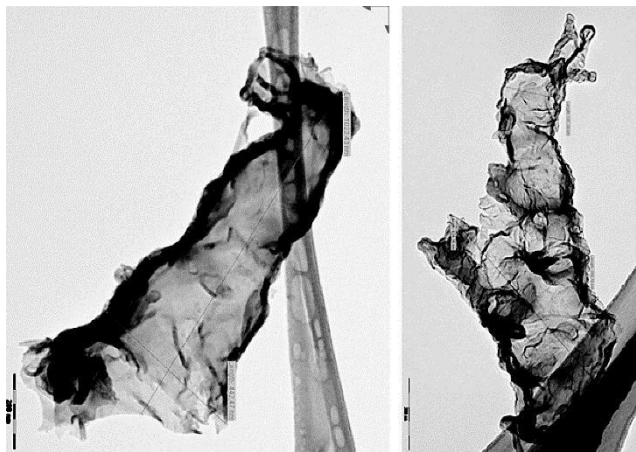


Рис. 1. Пластівчасті НЧ ZnO, одержані методом об'ємного електроіскрового диспергування. Шкала — 200 нм.<sup>1</sup>

На світлооптичному рівні клітини дослідної та контрольної ліній морфологічно не відрізнялися. Щільність клітин на стадії стаціонарного росту зросла на 20% у порівнянні з контролем.

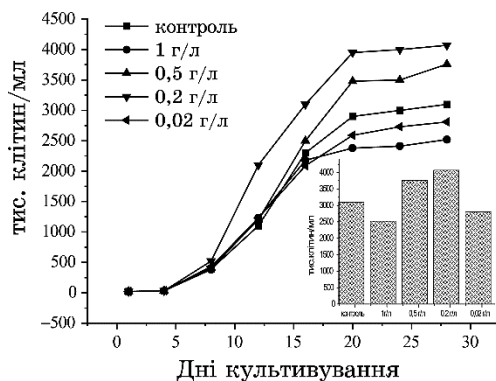
В культурі з концентрацією в середовищі НЧ ZnO у 0,2 г/л дослідна лінія візуально мала менш інтенсивне забарвлення порівняно з контрольною. На світлооптичному рівні клітини дослідної та контрольної ліній морфологічно не відрізнялися. Щільність клітин на стадії стаціонарного росту була на 31,5% більша, ніж в контролі.

На стадії стаціонарного росту в культурі *C. monadina* з концентрацією НЧ ZnO у 0,02 г/л візуальної різниці між дослідною та контрольною лініями не спостерігалось. На світлооптичному рівні клітини дослідної та контрольної ліній морфологічно не відрізнялися. Щільність клітин в культурі на стадії стаціонарного росту зменшилася на 10% порівняно з контролем.

Динаміку змін кількості клітин *C. monadina* в культурі в залежності від вмісту НЧ ZnO представлено на рис. 2.

При культивуванні *C. monadina* на середовищі «К», в якому  $Zn^{2+}$  був пропорційно замінений на НЧ ZnO, дослідна лінія за інтенсивністю забарвлення не відрізнялася від контрольної, яка вирощувалася на стандартному середовищі «К». Друга контрольна лінія (вирощувалася на середовищі «К», позбавленому Цинку) мала менш інтенсивне забарвлення порівняно з двома попередніми лініями. Морфологічно клітини дослідної та контрольних ліній не відрізнялися.

Після підрахунку чисельності клітин було встановлено, що їхня кількість у дослідній лінії збільшилася на 30% порівняно з лінією, що вирощувалася на стандартному середовищі «К», та на



**Рис. 2.** Зміни кількості клітин у культурі *C. monadina* в залежності від концентрації НЧ ZnO. На врізці показано кількість клітин у культурі на момент закінчення експерименту.<sup>2</sup>

35% у порівнянні з лінією, що вирощувалася на середовищі «К» без Цинку.

Динаміку змін кількості клітин у культурі на стандартному та модифікованих середовищах «К» представлено на рис. 3.

Таким чином, дослідження продемонстрували, що вплив НЧ ZnO на ріст культури *C. monadina* має концентраційнозалежний характер. Зокрема, висока (1 г/л) і низька (0,002 г/л) концентрації НЧ ZnO пригнічують ріст клітин, в той час як помірна концентрація наночастинок (0,5 г/л і 0,2 г/л) приводить до збільшення кількості клітин у культурі. Збільшується щільність клітин у культурі, а також їхнє забарвлення стає більш інтенсивним. Це, можливо, пов'язане зі збільшенням вмісту хлорофілу в клітині.

Що стосується експерименту з модифікованим середовищем «К», то в даному випадку було встановлено, що на середовищі, де  $Zn^{2+}$  був пропорційно замінений на НЧ ZnO, кількість клітин збільшилася порівняно із культурою *C. monadina*, що вирощувалася на стандартному середовищі «К».

НЧ ZnO можна описати спрощеною структурною формулою  $ZnO \cdot nH_2O / Zn^{2+}$ , де йон Цинку перебуває в рівноважній дисоціації-асоціації (розчинення Цинку та його осадження на твердофазний ZnO), формуючи визначену концентрацію йонів Цинку у водному розчині в залежності від концентрації НЧ ZnO. Висока та низька концентрація йонів Цинку призводять до пригнічення росту культури.

Відомо, що фотосинтез супроводжується генерацією та транспортуванням електронів у процесі перетворення вуглекислого газу в органічні сполуки. Збільшення кількості хлорофілу в клітині можна пояснити фотоелектричним ефектом, який виявля-

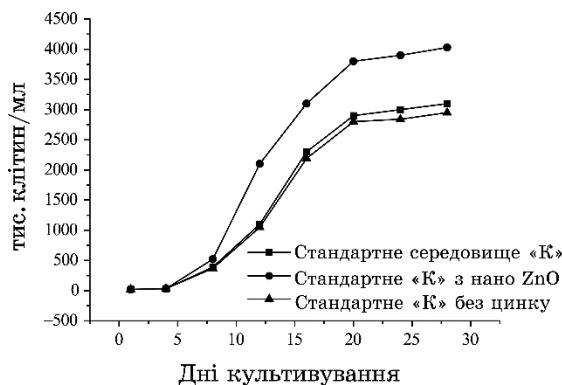


Рис. 3. Зміни кількості клітин *C. monadina* в культурі на стандартному та модифікованих середовищах «К».<sup>3</sup>

ють НЧ ZnO у розчині при опроміненні світлом люмінесцентної лампи під час культивування мікроводоростей. В цьому процесі відбувається додаткова генерація електронів за дії фотонів світла визначеної частоти.

#### 4. ВИСНОВКИ

1. Розчин пластівчастих НЧ ZnO, що був одержаний методом об'ємного електроіскрового диспергування, виявляє вплив на ріст мікроводорости *Chlamydomonas monadina* на середовищі «К» в процесі її культивування.
2. Висока (1 г/л) або низька (0,02 г/л) концентрації НЧ ZnO пригнічують ріст клітин *Chlamydomonas monadina*.
3. Помірна концентрація (0,2–0,5 г/л) НЧ ZnO приводить до збільшення кількості клітин *Chlamydomonas monadina* в культурі.
4. На модифікованому середовищі «К» (з НЧ ZnO замість  $Zn^{2+}$ ) *Chlamydomonas monadina* росте більш ефективно, ніж на стандартному.

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА—REFERENCES

1. H. Gleiter, *Acta Materialia*, **48**, No. 1: 1 (2000); [doi.org/10.1016/S1359-6454\(99\)00285-2](https://doi.org/10.1016/S1359-6454(99)00285-2)
2. G. Blanc, *Futuribles*, **293**: 57 (2004).
3. E. C. Dreaden, A. M. Alkilany, X. Huang, C. J. Murphy, and M. A. El-Sayed, *Chem. Soc. Rev.*, **41**: 2740 (2012); [doi.org/10.1039/C1CS15237H](https://doi.org/10.1039/C1CS15237H)
4. V. I. Popa, A. M. Capraru, S. Grama, and T. Malutan, *Cellul. Chem. Technol.*, **45**: 221 (2011).
5. J. Ji, Z. F. Long, and D. H. Lin, *Chem. Eng. J.*, **170**, Nos. 2–3: 525 (2011); [doi.org/10.1016/j.cej.2010.11.026](https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.11.026)
6. L. Cepoi, L. Rudi, T. Chiriac, A. Valuta, I. Zinicovscaia, G. Duca, E. Kirkesali, M. Frontasyeva, O. Culicov, S. Pavlov, and I. Bobrikov, *Can. J. Microbiol.*, **61**, No. 1: 13 (2015); [doi.org/10.1139/cjm-2014-0450](https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0450)
7. L. A. Röhder, T. Brandt, L. Sigg, and R. Behra, *Aquatic Toxicology*, **152**: 121 (2014); [doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.03.027](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.03.027)
8. J. Jiang, J. Pi, and J. Cai, *Bioinorg. Chem. Appl.*, **2018**: Article ID 1062562 (2018); <https://doi.org/10.1155/2018/1062562>
9. M. Vaseem, A. Umar, and Y. B. Hahn, *Metal Oxide Nanostructures and Their Applications*, **5**: 1 (2010).
10. A. V. Artemov, V. A. Zhil'tsov, Yu. A. Krutyakov, M. N. Ivanov, A. V. Pereslavitsev, M. V. Petrova, A. V. Timofeev, and O. V. Shelyakov, *Problems of Atomic Science and Technology*, **4**: 150 (2008) (in Russian).
11. A. A. Shcherba, S. N. Zakharchenko, K. G. Lopat'ko, N. I. Shevchenko, and N. A. Lomko, *Trudy Institutu Ehlektrodynamiky NAN Ukrayiny*, **26**: 152 (2010) (in Russian).
12. I. Yu. Kostikov, E. N. Demchenko, and M. A. Berezovskaya, *Chornomors'k.*

*Bot. Z.*, 5, No. 1: 37 (2009) (in Russian).

13. M. D. Keller, R. C. Selvin, W. Claus, and R. R. L. Guillard, *J. Phycology*, **23**: 633 (1987); <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1987.tb04217.x>

---

<sup>1</sup>*Taras Shevchenko National University of Kyiv,  
64/13, Volodymyrska Str.,  
UA-01601 Kyiv, Ukraine*

<sup>2</sup>*V. Ye. Lashkaryov Institute of Semiconductor Physics, N.A.S. of Ukraine,  
41, Prospekt Nauky,  
UA-03028 Kyiv, Ukraine*

1 **Fig. 1.** Flaky ZnO nanoparticles, obtained by bulk electrospark dispersion method. Bar — 200 nm.

2 **Fig. 2.** Changes in the *C. monadina* culture cells quantity depending on the NP ZnO concentration. The inset shows the number of cells in the culture at the final of the experiment.

3 **Fig. 3.** Changes in the *C. monadina* culture cells quantity on standard and modified 'K' media.