

М.М. Загорний<sup>1,3</sup>,  
 О.П. Яворовський<sup>2</sup>,  
 В.М. Рябовол<sup>2\*</sup>,  
 Н.І. Тищенко<sup>1,3</sup>,  
 Т.Ф. Лобунець<sup>1,3</sup>,  
 Т.В. Томила<sup>1</sup>,  
 О.В. Широков<sup>1</sup>,  
 А.В. Рагуля<sup>1,3</sup>,  
 Є.М. Анісімов<sup>2</sup>

## МОРФОЛОГІЧНІ, СПЕКТРАЛЬНІ Й ТОКСИКОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ НОВОГО КОМПОЗИТНОГО МАТЕРІАЛУ НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ З НАНОСРІБЛОМ ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ В МЕДИЦИНІ ТА БІОЛОГІЇ

Інститут проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича<sup>1</sup>

вул. Кржижановського, 3, Київ, 03142, Україна

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця<sup>2</sup>

бул. Т. Шевченка, 13, Київ, 01601, Україна

ТОВ «Нанотехцентр»<sup>3</sup>

вул. Кржижановського, 3, Київ, 03142, Україна

Frantsevich Institute for Problems of Materials Science, NAS of Ukraine<sup>1</sup>

Krzhizhanovsky str., 3, Kyiv, 03142, Ukraine

Bogomolets National Medical University<sup>2</sup>

T. Shevchenko blvd., 13, Kyiv, 01601, Ukraine

LLC «Nanotechcenter»<sup>3</sup>

Krzhizhanovsky str., 3, Kyiv, 03142, Ukraine

\*e-mail: riabovol1@ukr.net

**Цитування:** Медичні перспективи. 2022. Т. 27, № 1. С. 152-159

**Cited:** Medicni perspektivi. 2022;27(1):152-159

**Ключові слова:** наноструктури, поверхневі дефекти, композит нанодіоксиду титану з наносріблом, нанопорошок діоксиду титану, гостра внутрішньоочеревинна токсичність, сенсibiliзаційна дія, біологічна активність, анатаз

**Ключевые слова:** наноструктуры, поверхностные дефекты, композит нанодиоксида титана с наносеребром, нанопорошок диоксида титана, острая внутрибрюшинная токсичность, сенсibiliзирующее действие, биологическая активность, анатаз

**Key words:** nanostructures, surface defects, titanium nanodioxide composite with nanosilver, titanium dioxide nanopowder, acute intraperitoneal toxicity, sensitizing effect, biological activity, anatase

**Реферат.** Морфологические, спектральные и токсикологические особенности нового композитного материала нанодиоксида титана с наносеребром для использования в медицине и биологии. Загорный М.Н., Яворовский А.П., Рябовол В.Н., Тищенко Н.И., Лобунец Т.Ф., Томила Т.В., Широков А.В., Рагуля А.В., Анисимов Е.Н. Сегодня актуальным является получение и использование диоксида титана (нано-TiO<sub>2</sub>) с адсорбционными, бактерицидными, вирулицидными и фунгицидными свойствами для изготовления антибактериальных покрытий, для обеззараживания воздуха и воды. Параллельно с исследованиями физико-химических характеристик диоксида титана осуществлялась его токсикологическая оценка для предупреждения возможного вредного воздействия на человека и объекты биосферы с последующей оценкой класса опасности TiO<sub>2</sub>. Для получения указанных полезных свойств нано-TiO<sub>2</sub> синтезировали нанопорошки диоксида титана и композит диоксида титана с серебром (нано-TiO<sub>2</sub>/Ag) химическим осаждением метатитановой кислоты, с добавлением нитрата серебра для композита при температуре 500-600°C. Установлено, что синтезированные наноструктуры имеют следующие характеристики: анатазную кристаллическую структуру TiO<sub>2</sub> (анатаз, рутил, брукит – природные кристаллические модификации TiO<sub>2</sub>), размер наночастиц Ag составляет 35-40 нм, TiO<sub>2</sub> – 13-20 нм. Наноккомпозит имеет поверхностные дефекты кристаллической решетки (вакансии кислорода, примеси, избыточные электроны или дырки), также на поверхности анатаза TiO<sub>2</sub> локализованы наночастицы серебра, что повышает адсорбционную, фотокаталитическую, биологическую (особенно антибактериальную) активность композитного материала нано-TiO<sub>2</sub>/Ag. По параметрам острой внутрибрюшинной токсичности исследованный наноккомпозит отнесен к умеренно опасным веществам (материалам). Нано-TiO<sub>2</sub> и наноккомпозит TiO<sub>2</sub>/Ag не оказывают местно-раздражающего действия на кожу, но имеют слабо раздражающее действие на слизистую оболочку глаза, также характеризуются слабо выраженной способностью к сенсibiliзации.

**Abstract. Morphological, spectral and toxicological features of new composite material of titanium nanodioxide with nanosilver for use in medicine and biology.** Zahorni M.M., Yavorovsky O.P., Riabovol V.M., Tyschenko N.I., Lobunets T.F., Tomila T.V., Shirokov O.V., Ragulya A.V., Anisimov Ye.M. *The results of this study indicate that titanium dioxide nanoparticles (nano-TiO<sub>2</sub>) possess adsorptive, photocatalytic, bactericidal, virucidal and fungicidal properties, which are used in antibacterial coating, for air and water disinfection. In parallel with studies of the physicochemical characteristics of titanium dioxide, its toxicological assessment was carried out to prevent possible harmful effects on humans and the biosphere objects, followed by an assessment of the nano-TiO<sub>2</sub> hazard class. To enhance these useful properties of nano-TiO<sub>2</sub>, nanopowders of titanium dioxide and a composite of titanium dioxide were synthesized with a silver (nano-TiO<sub>2</sub>/Ag) by way of chemical precipitation of metatitanic acid adding silver nitrate to the composite at 500-600°C. It was stated that the synthesized nanostructures have the following characteristics: anatase crystal structure of TiO<sub>2</sub> (anatase, rutile, brookite – natural crystalline modifications of TiO<sub>2</sub>), the size of Ag nanoparticles is 35-40 nm, TiO<sub>2</sub> – 13-20 nm. Nanocomposite has surface defects of the crystal lattice (oxygen vacancies, impurities, excess electrons or holes), silver nanoparticles are localized on the surface of anatase TiO<sub>2</sub>, which increases adsorptive, photocatalytic, biological and specifically antibacterial properties of the composite material nano-TiO<sub>2</sub>/Ag. According to the parameters of acute intraperitoneal toxicity, the studied nanocomposite anatase nano-TiO<sub>2</sub>/Ag was classified as a moderately dangerous substance (material). Nano-TiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub>/Ag nanocomposites do not cause local irritation to the skin, yet have a mildly irritating effect on the mucous membrane of the eye, and are also characterized by a weak sensitization effect.*

Наноматеріали, одержані на основі наночастинок металів і їх сполук, усе ширше застосовуються в різних галузях економічної діяльності, біології та медицині. В Україні й світі особлива увага приділяється синтезу наночастинок на основі діоксиду титану (TiO<sub>2</sub>). Він існує в природі в трьох кристалічних модифікаціях – анатазу, рутилу, брукіту.

Особливість наночастинок діоксиду титану полягає в тому, що вони мають високу фотокаталітичну активність під дією ультрафіолетового випромінювання. У результаті експериментальних досліджень (Паньківська Ю.Б. і співавт. [5]) встановлено, що завдяки високій фотокаталітичній активності нано-TiO<sub>2</sub> може використовуватись як антимікробний агент з високою бактерицидною, віруцидною і фунгіцидною дією. Це набуває особливої актуальності в еру підвищення резистентності мікроорганізмів до дії антибіотиків та дезінфектантів.

Крім того, здійснена спроба використання нанодіоксиду титану для виготовлення антибактеріальних покриттів, просочування наноматеріалами фільтрів для знезараження води, повітря закритих приміщень тощо [5, 12, 16].

Введеться пошук нових матеріалів з підвищеними фотокаталітичними властивостями за рахунок додавання до діоксиду титану металів і металоксидних сполук із задалегідь відомими біоцидними властивостями (срібло, оксид міді, оксид заліза, оксид цинку тощо). Одним з таких новостворених наноматеріалів став композит на основі нанодіоксиду титану й наносрібла, одержаний в Інституті проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича.

Разом з тим добре відомо, що більш висока фізико-хімічна активність наночастинок супроводжується підвищенням їх біологічної актив-

ності, а різні композиції нано-TiO<sub>2</sub> можуть мати різну токсичність залежно від кристалічної структури, розміру, характеристик поверхні, форми частинок та площі поверхні. Крім того, дослідження авторів вказують, що, потрапивши в клітину шляхом ендцитозу, наночастинок TiO<sub>2</sub>, не поглинаються органелами й не піддаються біодеградації всередині клітини. Дослідники вважають, що в клітині нано-TiO<sub>2</sub> спричиняють неспецифічне збільшення концентрації внутрішньоклітинного реакційно здатного кисню, а це призводить до клітинного апоптозу та/або ініціювання запальної реакції. При дослідженні цитотоксичності нано-TiO<sub>2</sub> для епітеліальних клітин легенів людини встановлено, що кристалічна форма анатазу є більш токсичною, ніж суміш анатазу й рутилу [11].

Зазначене свідчить про те, що паралельно з дослідженнями фізико-хімічних характеристик необхідно здійснювати їх токсикологічну оцінку для попередження можливого шкідливого впливу на людину та об'єкти біосфери.

Об'єктом наших досліджень слугував згаданий вище новостворений композитний матеріал нанодіоксиду титану, модифікований наносріблом, який розроблено в Інституті проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича для застосування в біології і медицині.

Мета дослідження полягала у вивченні морфологічних особливостей будови нанокompозиту TiO<sub>2</sub>/Ag, дослідженні оптичних і токсикологічних властивостей цього матеріалу.

#### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Нанопорошки діоксиду титану й композит діоксиду титану зі сріблом (нано-TiO<sub>2</sub>/Ag) синтезували хімічним осадженням метатитанової кислоти, з додаванням нітрату срібла в кількості 4% від маси композиту при температурі 500-600°C.

Морфологічні, структурні, спектральні та оптичні властивості об'єктів нано-TiO<sub>2</sub> і нано-TiO<sub>2</sub>/Ag охарактеризовано за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ), рентгенівського фазового аналізу (РФА), інфрачервоної спектроскопії (ІЧС) та лазерної гранулометрії. Дослідження пористої структури зазначених нанопорошків проводили методом визначення площі питомої поверхні (експрес-методом теплової десорбції азоту) на приладі ГХ-1 згідно з методикою [2].

ТЕМ дослідження зразків проводили за допомогою електронного мікроскопа JEM-1400 (JEOL, Японія) при інструментальному збільшенні від 2000 до 100000 при прискорювальній напрузі 80 кВ за методикою роботи [13].

РФА синтезованих зразків TiO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub>/Ag досліджували з використанням рентгенівського дифрактометра ДРОН-3М за методикою [14].

ІЧ-спектроскопічні дослідження зразків проводили на фур'є-спектрометрі ФСМ-1201 в області довжин хвиль 4000-400 см<sup>-1</sup>. Для вимірів досліджували зразки ретельно змішувалися з порошком КВг у співвідношенні (1:300 мг) і отримана суміш пресувалася в прозорі таблетки діаметром 13 мм [3].

Оскільки наночастинки TiO<sub>2</sub> і TiO<sub>2</sub>/Ag виявляли схильність до агломерації і були нестійкими у водних суспензіях, нами був проведений пошук хімічних сполук, які могли виступати фактором стабілізації суспензій (фізіологічний розчин, розчини цитрату натрію, глюкози тощо), що має значення для планування й проведення токсикологічних експериментів, зокрема дозування нанопорошків при їх введенні per os, інтраперитонеально, інтраназально тощо. Розмір агломератів наночастинок у дисперсійному середовищі визначали методом лазерної гранулометрії на приладі Analysette 12 DynaSizer [8].

Місцева подразнююча дія нанопорошків TiO<sub>2</sub> та TiO<sub>2</sub>/Ag досліджувалась шляхом аплікації мазі, одержаної на основі вазеліну й наноматеріалу при змішуванні в співвідношенні за вагою 1:1, на правий бік попередньо депільованої шкіри (5x5 см на симетричних ділянках спини, лівий бік для контролю) морських свинок (контрольна й досліджувані групи становили по 4 тварини). Оцінювали ступінь еритеми та величину набряку шкіри. Порівнювали відмінність у подразненні шкіри між дослідними та контрольними групами [4].

Вивчення місцевої дії нанопорошків на слизову оболонку ока проводили шляхом внесення у кон'юнктивальний мішок правого ока (ліве око контрольне) кролика 10 мг нативного нанопо-

рошку TiO<sub>2</sub> та TiO<sub>2</sub>/Ag (досліджувані групи становили по 3 тварини). Оцінювали подразнення слизової оболонки ока за ступенем гіперемії, набряку, виділеннями зі слизової оболонки [4].

Гостра токсичність наноматеріалів TiO<sub>2</sub> та TiO<sub>2</sub>/Ag досліджувалась на щурах внутрішньоочеревинним введенням суспензії у фізіологічному розчині (0,9% NaCl) у дозах від 1 тис. мг/кг до 13 тис. мг/кг (13 лабораторних тварин). Тривалість спостереження за станом тварин після введення становив 14 діб, оцінювали прояви ознак інтоксикації та летальність. Виводили з експерименту щурів введенням пропофолу 1%. Виконували загальний аналіз крові [4]. Гостру токсичність нано-TiO<sub>2</sub> та нано-Ag/TiO<sub>2</sub> досліджували на мишах у дозах 4 тис. мг/кг, 7 тис. мг/кг, 10 тис. мг/кг (контрольна та досліджувані групи по 6 тварин) шляхом внутрішньоочеревинного введення суспензії у фізіологічному розчині (0,9% NaCl). Спостереження та виведення з експерименту проводили за аналогічних умов, як і в експерименті на щурах [4].

Сенсибілізуюча дія нано-TiO<sub>2</sub> та нано-Ag/TiO<sub>2</sub> вивчалась на морських свинках (контрольна та досліджувані групи по 4 тварини) шляхом внутрішньошкірного введення суспензій нанопорошків у дозі 200 мкг у вухо морської свинки [4].

Умови утримання й використання лабораторних тварин відповідали етичним правилам і положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

In vitro досліджувався вплив композиту на функціональну активність мононуклеарних клітин донорів. У 30 донорів (практично здорових людей), після інформованої згоди, була взята периферична кров для дослідження in vitro. Мононуклеарні клітини виділяли з периферичної крові та культивували на середовищі RPMI-1640, далі клітинну суспензію інкубували 24 години в CO<sub>2</sub>-інкубаторі при 37°C без стимулюючого агента, при стимуляції мітогеном ФГА та наноматеріалами в дозах 30 мкг/мл. Імуноферментним методом (ELISA) в супернатантах мононуклеарних клітин визначали концентрацію цитокінів (IL-1, IL-4) [7]. Дослідження проведені з дотриманням принципів біоетики, викладених у Гельсінській декларації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людей» та узгоджені комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень Національного медичного університету імені О.О. Богомольця № 128 від 23.12.2019 р.

Для статистичної обробки використовувалися непараметричні критерії: W-критерій Вілкоксона, ранговий однофакторний аналіз Крускала-Уолліса, множинні порівняння за критерієм Данна. Відмінність вважали статистично значущою при  $p < 0,05$ . Статистичну обробку інформації проведено за допомогою пакету програм MedStat v.5.2 (Copyright © 2003-2019) [1].

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведено аналіз морфології нанопорошків  $\text{TiO}_2$  з використанням електронної трансмісійної мікроскопії (ТЕМ). На рисунку 1 наведено електронно-мікроскопічне зображення наночастинок

$\text{TiO}_2$  (Інститут проблем матеріалознавства – ІПМ) та  $\text{TiO}_2$ -P25 (в якості порівняльного зразка обрано комерційний зразок діоксиду титану, а саме  $\text{TiO}_2$ -P25 виробництва Evonik Industries AG, Німеччина). Установлено, що нанопорошок  $\text{TiO}_2$  (ІПМ) містить м'які агрегати, наночастинки переважно розміром 20-30 нм (рис. 1а). Нанопорошок  $\text{TiO}_2$  (ІПМ) має розвинуту поверхневу структуру за рахунок наявності мезопор (пори 2-50 нм) і питомої поверхні 50,84 м<sup>2</sup>/г. Наночастинки  $\text{TiO}_2$ -P25 мають переважно квадратоподібну форму з розміром 20-25 нм (рис. 1б).

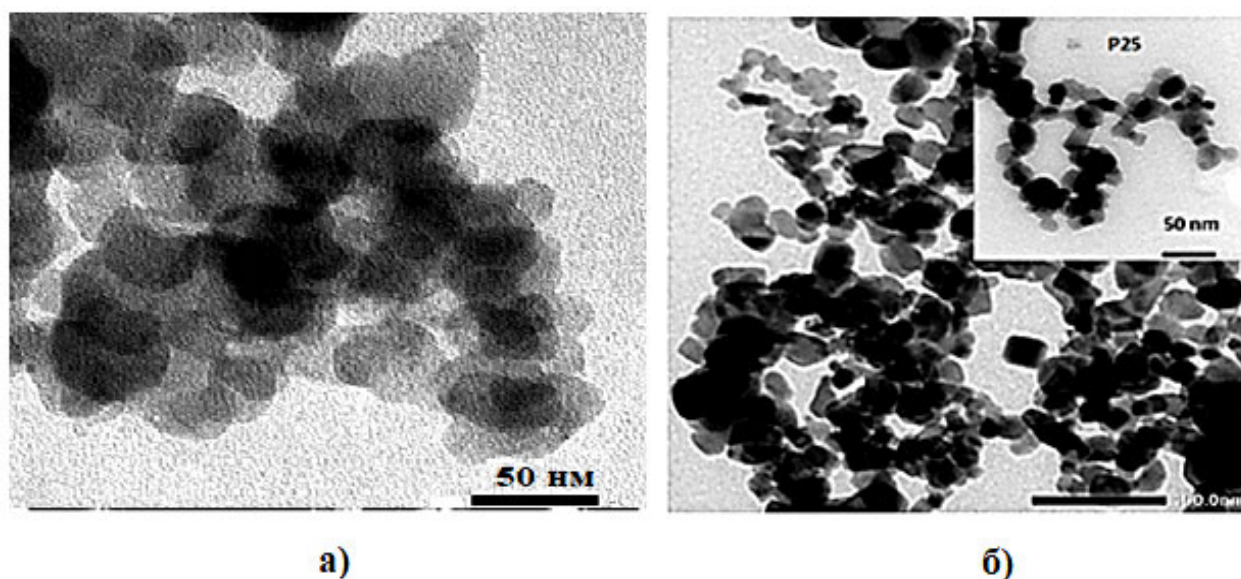


Рис. 1. Морфологія поверхні нанопорошків  $\text{TiO}_2$   
а) – зображення трансмісійної мікроскопії поверхні  $\text{TiO}_2$  (ІПМ),  
б) – зображення трансмісійної мікроскопії поверхні  $\text{TiO}_2$ -P25

Поверхневі структурні дефекти  $\text{TiO}_2$  (утворення на поверхні анатазу нестехіометричних ділянок) можуть виступати як активні центри, а також надають можливість додаткового хімічного модифікування поверхні оксиду металом (нано-Ag) для цілеспрямованого регулювання структури  $\text{TiO}_2$  й проведення каталітичних реакцій, підвищення біологічної активності, зокрема біоцидної дії.

ТЕМ – зображення поверхні зразка наноконструкції  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  підтверджують осадження срібла на поверхні оксиду (рис. 2). Спостерігаємо «кулькоподібні» частинки срібла (червона ділянка), при цьому частинки Ag мають середній розмір 35-40 нм, а частинки  $\text{TiO}_2$  – 13-20 нм. Площа питомої поверхні нано- $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  становить 50,11 м<sup>2</sup>/г.

Стабілізація суспензії нанопорошків глюкозоцитратним буфером (4 г глюкози, 1 г цитрату натрію, 100 мл дистильованої води) сприяла значному

зменшенню агломерованих комплексів від розмірів агломератів 300-500 нм до 40-50 нм [8].

Для ідентифікації типу кристалічної фази  $\text{TiO}_2$  нами застосовано рентгенівський фазовий аналіз (РФА). Дифрактограму [3] використовують для дослідження структури діоксиду титану та інших об'єктів (кристалічних, аморфно-кристалічних). Крім того, у зразках  $\text{TiO}_2$  в ділянці концентрацій срібла 2-3,8 мас.% автори Der-Shing Lee, Yu-Wen Chen [10] також не спостерігали утворення інших фаз, окрім  $\text{TiO}_2$  анатазної модифікації.

Зменшення розміру частинок  $\text{TiO}_2$  при заміщенні іонів  $\text{Ti}^{4+}$  іонами  $\text{Ag}^+$  може бути пов'язане з осадженням срібла на поверхні  $\text{TiO}_2$ , що призводить до порушення структурної симетрії (узгодження з ІЧ-спектроскопією), а отже, і до зменшення розмірів наночастинок [3]. Це нами доведено за допомогою ТЕМ – досліджень зразків (рис. 2).



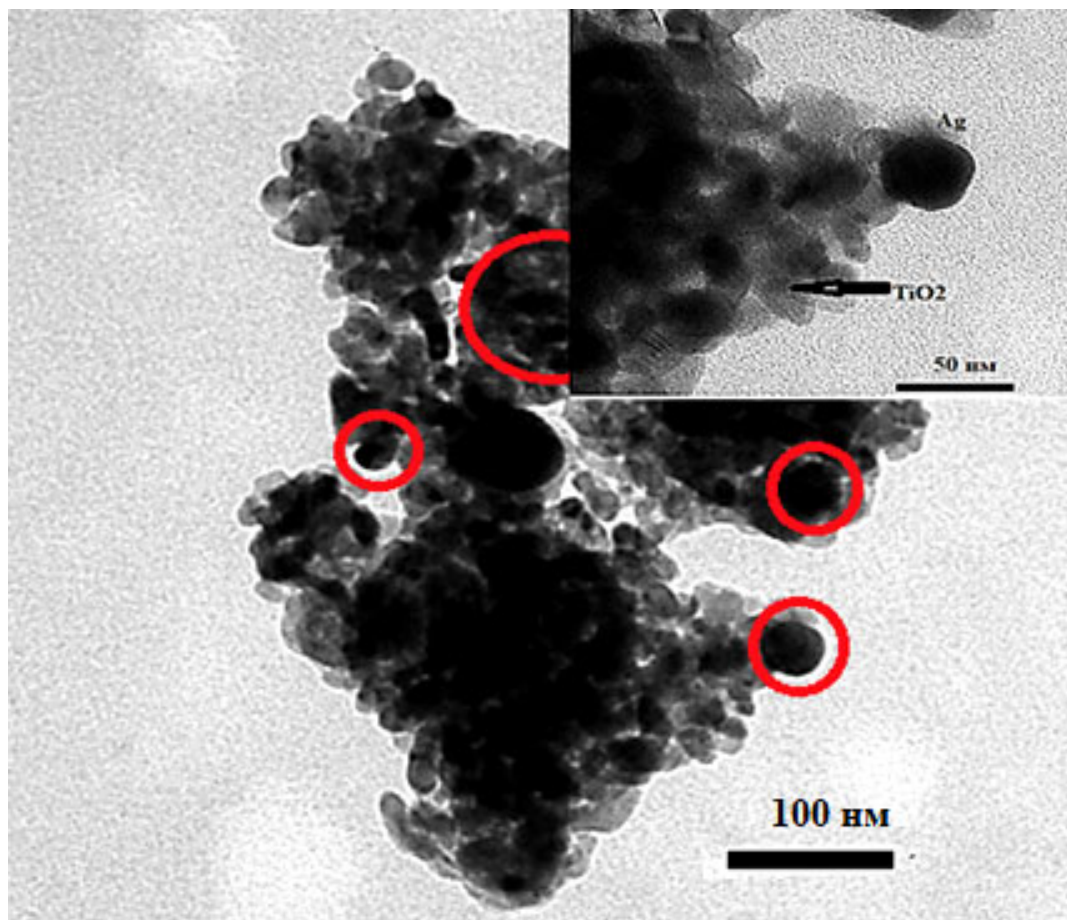


Рис. 2. Морфологія частинок нанокompозиту  $\text{TiO}_2$  з 4 мас.% Ag (трансмiсійна електронна мiкроскопiя)

Аналіз ІЧ-спектрів [3] досліджуваних зразків показав, що для зразка (нано- $\text{TiO}_2$  анатаз) характерний прояв смуг поглинання коливань  $\text{Ti-O}$  з частотами  $\nu \sim 504$  і  $664 \text{ cm}^{-1}$ . Для ІЧ-спектра другого зразка (нано- $\text{TiO}_2$  анатаз + 4 мас.% Ag) спостерігається зсув частот поглинання  $\text{Ti-O}$  коливань у довгохвильовий бік. Частоти  $\nu \sim 1110$  і  $1188 \text{ cm}^{-1}$  характеризують поверхневі коливання функціональних груп ( $-\text{OH}$ ), та пов'язані з методикою модифікування. Спектральні дослідження доводять утворення лише кристалічної анатазної модифікації з гідроксильними групами та фазою срібла (узгодження РФА [3]), що може слугувати підставою для рекомендацій щодо використання композитного матеріалу як адсорбента. Наявні гідроксильні групи на дефектній поверхні  $\text{TiO}_2$  стають досить активними внаслідок захоплення дірки з подальшим утворенням  $\bullet\text{OH}$  та інших активних форм кисню (іон радикали  $\bullet\text{OH}$ ,  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ,  $\text{O}^-$ ), що призводить до підвищення адсорбційної здатності й біологічної активності анатазу [5, 15]. Окрім вакансій кисню, також можуть бути присутні інші поверхневі дефекти для анатазу залежно від методу синтезу, хімічного складу

повітря, у якому зберігається порошок, умов зберігання (темрява чи освітлення).

Проведені нами токсикологічні дослідження показали, що нанопорошки  $\text{TiO}_2$  і  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  (мазь на основі вазеліну 1:1) не чинять місцево-подразнюючої дії на шкіру морських свинок. Нанопорошки  $\text{TiO}_2$  і  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  у дозі 10 мг виявляють слабо подразнюючу дію на слизову оболонку ока кролика.

Шляхом внутрішньошкірного введення суспензій нанопорошків у дозі 200 мкг у вухо морської свинки встановлено, що нано- $\text{TiO}_2$  і нано- $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  можуть спричинити слабо виражену сенсibiliзаційну дію.

Дослідження гострої токсичності шляхом внутрішньоочеревинного введення мишам виявили, що доза 10 тис. мг/кг нанопорошків  $\text{TiO}_2$  і  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  викликає їх 100% загибель. Доза 7 тис. мг/кг нано- $\text{TiO}_2$  викликала часткову загибель мишей, проте для нано- $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  була абсолютно смертельною. Доза 4 тис. мг/кг не призводила до загибелі мишей при введенні нано- $\text{TiO}_2$ , а при введенні нано- $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  викликала їх часткову загибель. Тобто нанопорошок  $\text{TiO}_2$  виявився відносно менш токсичним порівняно з  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$ .

На відміну від мишей, при внутрішньо-очеревинному введенні щурам дози досліджуваних нанопорошків від 1 тис. мг/кг до 13 тис. мг/кг не викликали випадків загибелі тварин, однак призводили до ознак загальної інтоксикації (пригніченість, відмова від корму), а також до зниження вмісту еритроцитів та тромбоцитів у периферичній крові піддослідних тварин.

За визначеними смертельними дозами (від 4 до 10 тис. мг/кг досліджуваних речовин, уведених мишам) нанопорошок  $TiO_2$  попередньо згідно з ГОСТ 12.1.007-76 «Система стандартів безпеки праці. Шкідливі речовини. Класифікація і загальні вимоги безпеки» можна віднести до 4 класу (малонебезпечні), а наноккомпозит  $TiO_2/Ag$  – до 3 класу (помірно небезпечні) небезпечності шкідливих речовин.

Цитокіни забезпечують регулювання ефектів імунної системи. Експерименти з вивчення впливу наноматеріалів на імунну систему, проведені в умовах *in vitro*, показали, що наноматеріал у концентраціях 30 мкг/мл  $nano-TiO_2-Ag$  (доза, що відповідає можливому надходженню в організм оператора нановиробництва інгаляційно) здатний підвищувати функціональну активність мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією прозапального цитокіну IL-1 (інтерлейкін 1 продукується переважно макрофагами у відповідь на пошкодження організму, підвищує продукцію інших прозапальних цитокінів) та продукцією IL-4 (інтерлейкін 4 активує В-лімфоцити, переключує продукцію IgM на продукцію IgG<sub>4</sub> або IgE й активує Т-лімфоцити, що задіяні в алергічній реакції клітинного типу) в донорів ( $p < 0,05$ ) (рис. 3-4).

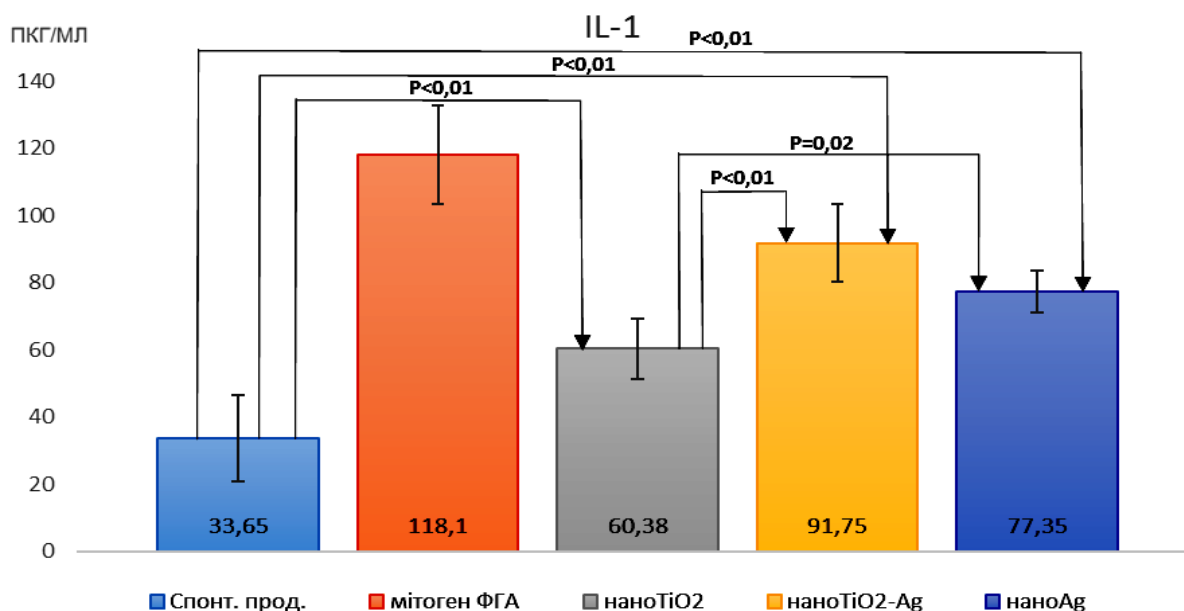


Рис. 3. Порівняльна продукція IL-1 мононуклеарними клітинами *in vitro* в донорів під впливом наноматеріалів

Наведені вище результати досліджень *in vitro* свідчать про потенційну можливість наноккомпозит у  $TiO_2-Ag$  формувати хронічне запалення та алергічні реакції в категорії працівників, які зазнають впливу зазначених нанопорошків в умовах виробництва.

Таким чином, проведені нами токсикологічні дослідження новосинтезованих нанопорошків  $TiO_2$  і  $TiO_2/Ag$  підтверджують результати раніше проведеної токсиколого-гігієнічної оцінки нанопорошків нітриду титану, дисиліциду хрому, титанату барію, діоксиду цирконію, синтезованих Інститутом проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича.

Так, нанопорошки металів, їх кисневих і безкисневих сполук виявляються менш токсичними й небезпечними при потраплянні в організм через шлунково-кишковий тракт і шкіру, проте виявляють більш виражену токсичну дію при надходженні в організм інгаляційним шляхом [6, 7]. Усі дослідженні нами наночастки не подразнюють шкіру, хоча можуть справляти слабо виражений іритативний ефект при потраплянні на слизову оболонку ока. При потраплянні нанопорошків у живий організм реагує імунна система, формуючи у відповідь токсикоалергічні реакції.

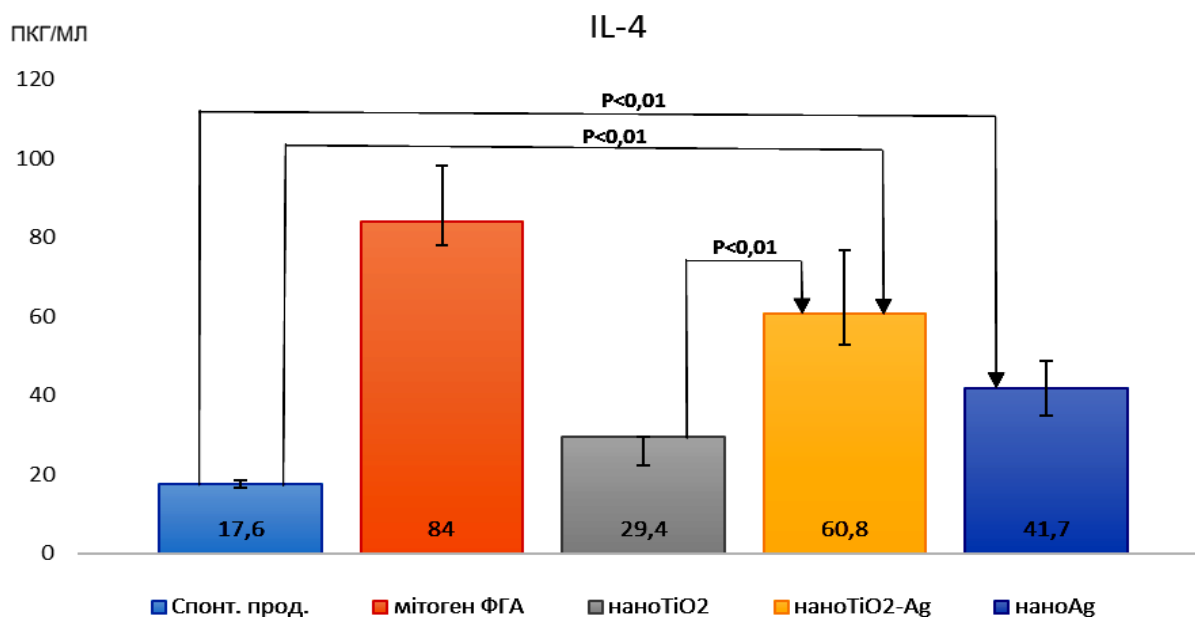


Рис. 4. Порівняльна продукція ІЛ-4 мононуклеарними клітинами *in vitro* в донорів під впливом наноматеріалів

Що стосується більш вираженого токсичного ефекту нано- $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  порівняно з чистим нано- $\text{TiO}_2$ , то ці дані цілком узгоджуються з дослідженнями Інституту мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, проведеними на культурах клітин MDBK, MDCK, HepG2, які показали більш виражені біоцидні властивості наноконструкції  $\text{TiO}_2+\text{Ag}$  саме в концентрації срібла 4% [9, 10]. Композитний матеріал нано- $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  із вмістом срібла, що не перевищує 4%, виявляє більш виражений біоцидний ефект (віруліцидний, бактерицидний, фунгіцидний), проте не руйнує саму живу клітину.

#### ВИСНОВКИ

1. Нанопорошок  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$ , синтезований методом хімічного осадження, з концентрацією срібла на поверхні 4 мас.%, має свої фізико-хімічні особливості, які стосуються морфології наночасток, молекулярної будови їх поверхні й токсикологічних властивостей.

2. Методом трансмісійної електронної мікроскопії встановлено, що наночастинки Ag мають середній розмір дисперсної фази Ag 35-40 нм, а  $\text{TiO}_2$  – 13-20 нм у композитному матеріалі. Частилки наносрібла локалізовані на поверхні нанодіоксиду титану. Нанопорошки  $\text{TiO}_2$  і  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  мають розвинену поверхневу структуру з мезопорами. Лазерною гранулометриєю показано, що в глюкозо-цитратному буфері ультразвуковим диспергуванням вдається значно зменшити розмір агрегатів у нанопорошках  $\text{TiO}_2$  та  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$ .

3. Шляхом спектрального аналізу (РФА, ІЧ) підтверджено чистоту модифікації анатазу нанопорошків  $\text{TiO}_2$  та  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$ . Дефекти, виявлені на поверхні синтезованого нано- $\text{TiO}_2$ , можуть виступати як активні центри, що дають можливість модифікувати наночастинками бактерицидність металу (Ag) для поліпшення антимікробних, фотокаталітичних і біосумісних властивостей.

4. Нано- $\text{TiO}_2$  та наноконструкція  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  не чинять місцево-подразнюючої дії на шкіру, мають слабо подразнюючу дію на слизову оболонку ока та характеризуються слабо вираженими сенсibiliзуючими властивостями. Потенційно нано- $\text{TiO}_2-\text{Ag}$  здатний викликати алергічні реакції й хронічне запалення в працівників.

5. Необхідне подальше вивчення токсикологічних властивостей нано- $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  з метою з'ясування механізмів їх біологічної дії на клітинному та молекулярно-генетичному рівнях, дослідження можливих проявів віддалених ефектів для обґрунтування гігієнічних нормативів (ГДК або ОБРВ) у повітрі робочої зони.

#### Внески авторів:

Загорний М.М. – написання – початковий проєкт, ведення;

Яворовський О.П. – адміністрування проєкту, концептуалізація, методологія, написання – рецензування та редагування;

Рябовол В.М. – методологія, дослідження, формальний аналіз;

Тищенко Н.І. – дослідження, ресурси;

Лобунець Т.Ф. – дослідження;  
 Томила Т.В. – дослідження;  
 Широков А.В. – формальний аналіз;  
 Рагуля А.В. – адміністрування проєкту, знаходження фінансової підтримки;  
 Анісімов Є.М. – дослідження, формальний аналіз.

#### Фінансування.

Грант Horizon2020 #862296 SABYDOMA (технологія синтезу нанокompозиту  $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ ).  
 Грант НАН України № 40/20-Н (шифр П-12-

20 (Н)) «Розробка фотокаталітичних нанокompозитів для інактивації вірусів у повітрі» (дослідження цитотоксичності синтезованого нанокompозиту  $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ ).

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Подяка.** Дослідження зразків за допомогою TEM проведено разом з к.б.н. Харчуком М.С., к.б.н. Загородньою С.Д. (Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України).

## REFERENCES

1. Antomonov MYu. [Mathematical processing and analysis of medical and biological data. 2nd ed.]. Kyiv: MYCz "Medynform"; 2018. p. 579. Russian.
2. Gavrilova NN, Nazarov VV [Analysis of the porous structure based on adsorption data]. Moskva. RKHTU im. DI Mendeleeva; 2015;1-132. Russian. <https://www.muctr.ru/upload/iblock/1c4/1c4c1e29aed37f72eaedff29acbe3a2e.pdf>
3. Lavrynenko OM, Zahornyi MM, Tyschenko NI, et al. [Synthesis and properties of nanocomposites based on iron and titanium oxides modified by silver]. *Fizyko-khimichna mekhanika materialiv*. 2021;2:51-56. Ukrainian. Available from: <http://pcmm.ipm.lviv.ua/pcmm-2021-2u.pdf>
4. [Methodical recommendations "Hygienic rationing and control of nanomaterials in the production environment"]. Kyiv: National Academy of Medical Sciences of Ukraine; 2016. Ukrainian.
5. Pankivska YuB, Biliavska LO, Povnitsa OYu, et al. [Antiadenoviral activity of titanium dioxide nanoparticles]. *Mikrobiolohichniy zhurnal*. 2019;81(5):73-84. Ukrainian. doi: <https://doi.org/10.15407/microbiolj81.05.073>
6. Solokha NV. [Physiological, hygienic and toxicological aspects of prevention of nanopowders of chromium disilicide and titanium nitride on the body of workers] [dissertation]. Kyiv; 2018. p. 24. Ukrainian.
7. Solokha NV, Yavorovsky OP, Karlova OO, et al. [Functional activity of mononuclear blood cells for cytokine production by nanocomposite materials under in vitro]. *Immunology and allergology: science and practice*. 2015;2:94-98. Ukrainian. Available from: [http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis\\_nbuv/cgiirbis\\_64.exe?-C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&IMAG E\\_FILE\\_DOWNLOAD=1&Image\\_file\\_name=PDF/Ita\\_2\\_015\\_2\\_17.pdf](http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?-C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&IMAG E_FILE_DOWNLOAD=1&Image_file_name=PDF/Ita_2_015_2_17.pdf)
8. [Method of stabilizing metal nanopowders and their derivatives by glucose-citrate buffer]. Ukraine patent 148325, G01N33/18G01N33/48, B82Y5/00. No. u202007215. 2021 July 28. Ukrainian.
9. Zahornyi MM, Tyschenko NI, Lobunets TF, Kolomys OF, Strelchuk VV, Naumenko KS, et al. The Ag influence on the surface states of  $\text{TiO}_2$ , optical activity and its cytotoxicity. *J. Nano- Electron. Phys*. 2021 Dec;13(6):06009-1-06009-5 doi: [https://doi.org/10.21272/jnep.13\(6\).06009](https://doi.org/10.21272/jnep.13(6).06009)
10. Ahamed M, Khan M, Akhtar M, Alhadlaq H, Alshamsan A. Ag-doping regulates the cytotoxicity of  $\text{TiO}_2$  nanoparticles via oxidative stress in human cancer cells. *Scientific Reports*. 2017;7(1). doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17559-9>
11. Drew R, Hagen T. Engineered Nanomaterials: An Update on the Toxicology and Work Health Hazards; 2015. Available from: <https://www.safeworkaustralia.gov.au/system/files/document/s/1702/engineered-nanomaterials-update-toxicology.pdf>
12. Hernandez JV. Structural and Morphological modification of  $\text{TiO}_2$  doped metal ions and investigation of photo-induced charge transfer processes. *Physics. Université du Maine. México: Instituto politécnico nacional*; 2017. Available from: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01954392/document>
13. Hetaba W, Imlau R, Duarte-Correa L, Lamoth M, Kujawa S, Lunkenbein T. ChemiTEM – Transmission Electron Microscopy Optimized for Chemistry and Material Science. *Chemistry-Methods*. 2021;1(9):401-407. doi: <https://doi.org/10.1002/cmt.202100001>
14. Holder C, Schaak R. Tutorial on Powder X-ray Diffraction for Characterizing Nanoscale Materials. *ACS Nano*. 2019;13(7):7359-65 doi: <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b05157>
15. Lee D, Chen Y. Nano Ag/ $\text{TiO}_2$  catalyst prepared by chemical deposition and its photocatalytic activity. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2014;45(2):705-12. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2013.07.007>
16. Zhou R, Lin S, Zong H, Huang T, Li F, Pan J, et al. Continuous Synthesis of Ag/ $\text{TiO}_2$  Nanoparticles with Enhanced Photocatalytic Activity by Pulsed Laser Ablation. *Journal of Nanomaterials*. 2017;2017:1-9. doi: <https://doi.org/10.1155/2017/4604159>

Стаття надійшла до редакції  
 12.10.2021