

**МОЛДАВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ДОКТОРСКАЯ ШКОЛА ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК**

На правах рукописи:

УДК: 504.054:620.3:631.46:581.5

**ПЕШКОВА АЛЕКСАНДРА
ОЦЕНКА ОПАСНОСТИ НЕКОТОРЫХ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ
СИСТЕМЫ ПОЧВА-ПОЧВЕННАЯ МИКРОБИОТА-РАСТЕНИЯ**

**Диссертация на соискание степени кандидата экологических наук
166.01. Экология**

Научный руководитель: _____



ЧЕПОЙ Лилиана,

Доктор _____ хабилизат
биологических наук, член-
корреспондент Академии
Наук Молдовы

Автор: _____



ПЕШКОВА Александра

КИШИНЕВ, 2026

**UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ ȘTIINȚE ALE NATURII**

Cu titlu de manuscris:

C.Z.U. 504.054:620.3:631.46:581.5

**PESHKOVA ALEXANDRA
EVALUAREA PERICOLULUI UNOR NANOPARTICULE METALICE PENTRU
SISTEMUL SOL-MICROBIOTA EDAFICĂ-PLANTE**

Teză de doctor în științe ale mediului

166.01. Ecologie

Conducător științific:



CEPOI Liliana,

Doctor habilitata în științe
biologice, membru-
corespondent al AȘM

Autor:



PESHKOVA Alexandra

CHIȘINĂU, 2026

©Peshkova Alexandra, 2026

СОДЕРЖАНИЕ

АННОТАЦИЯ	8
СПИСОК ТАБЛИЦ.....	9
СПИСОК РИСУНКОВ	12
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	15
ВВЕДЕНИЕ.....	16
1.НАНОЧАСТИЦЫ МЕТАЛЛОВ В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ: ИСТОЧНИКИ, МИГРАЦИЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ	26
1.1. Нормативно-правовая база и механизмы обеспечения нанобезопасности.....	26
1.2. Области применения наночастиц металлов	30
1.3. Способы получения наночастиц металлов	35
1.3.1. Получение наночастиц серебра	36
1.3.2. Получение наночастиц золота	37
1.3.3. Получение наночастиц меди.....	38
1.4. Содержание наночастиц в объектах окружающей среды	39
1.5. Влияние наночастиц на живые организмы	41
1.5.1. Влияние наночастиц на почву и почвенные микроорганизмы	41
1.5.2. Влияние наночастиц на растительные объекты.....	42
1.5.3. Влияние наночастиц на животных и здоровье человека	48
1.6. Методы детектирования наночастиц в биологических образцах	50
1.7. Выводы по первой главе	52
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	54
2.1. Материалы.....	54
2.1.1. Растительные тест-объекты	54
2.1.2. Растворы наночастиц металлов	55
2.1.3. Почвенный грунт	55
2.2. Схема лабораторных экспериментов.....	56
2.2.1. Петрушка кудрявая (<i>Petroselinum crispum</i> Mill.)	57

2.2.2. Мята колосистая (<i>Mentha spicata</i> L.).....	57
2.2.3. Календула лекарственная (<i>Calendula officinalis</i> L.).....	58
2.3. Схема полевых экспериментов	58
2.3.1. Черника обыкновенная (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	58
2.3.2. Мята колосистая (<i>Mentha spicata</i> L.).....	58
2.4. Приготовление травяного настоя.....	58
2.5. Активность почвенных микроорганизмов	59
2.6. Методы исследований.....	60
2.6.1. Пробоподготовка и проведение измерений методами атомно-абсорбционной спектрометрии, оптико-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой	61
2.6.2. Проведение измерений с помощью оптико-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.....	61
2.6.3. Проведение измерений с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой	62
2.6.4. Проведение измерений с помощью атомно-абсорбционной спектрометрии	62
2.6.5. Проведение измерений с помощью k0-нейтронного активационного анализа.....	62
2.6.6. Проведение измерений с помощью спектроскопии испускания гамма-лучей, индуцированного частицами	63
2.6.7. Метод просвечивающей электронной микроскопии.....	63
2.6.8. Расчет коэффициентов транслокации и биоконцентрации металлов.....	63
2.6.9. Расчет риска для здоровья человека	64
2.6.10. Проведение биохимических анализов	65
2.6.11. Статистическая обработка экспериментальных данных	67
2.7. Выводы к главе 2	68
3. ВЛИЯНИЕ МЕТОДА ВНЕСЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА И МЕДИ НА АККУМУЛЯЦИЮ И БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС <i>PETROSELINUM CRISPUM</i> MILL. И ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОТЫ.	69
3.1. Внесение наночастиц методом полива.....	70

3.1.1. Влияние AuNPs и CuNPs на биохимический статус растений.....	70
3.1.2. Влияние AuNPs и CuNPs на активность почвенной микробиоты	74
3.1.3. Влияние AuNPs и CuNPs на накопление золота и меди в почве и сегментах <i>Petroselinum crispum</i> Mill. и в почве.....	75
3.2. Внесение наночастиц методом опрыскивания.	78
3.2.1. Влияние AuNPs и CuNPs на биохимический статус растений.....	78
3.2.2. Влияние AuNPs и CuNPs на накопление золота и меди в почве и сегментах <i>Petroselinum crispum</i> Mill.	81
3.3. Оценка рисков для здоровья человека, связанных с употреблением <i>Petroselinum crispum</i> Mill., обработанной AuNPs и CuNPs	82
3.4. Выводы к Главе 3	84
4. ВЛИЯНИЕ МЕТОДА ВНЕСЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ <i>CALENDULA OFFICINALIS</i> L., МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА И НАКОПИТЕЛЬНУЮ СПОСОБНОСТЬ РАСТЕНИЙ.	87
4.1. Внесение наночастиц методом полива.....	87
4.1.1. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на биохимический статус растений	87
4.1.2. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на активность почвенной микробиоты.....	92
4.1.3. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на накопление серебра, золота и меди в почве и сегментах <i>Calendula officinalis</i> L. и в почве	93
4.2. Внесение наночастиц методом опрыскивания	97
4.2.1. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на биохимический статус растений	97
4.2.2. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на накопление серебра, золота и меди в почве и сегментах <i>Calendula officinalis</i> L.	101
4.3. Оценка рисков для здоровья человека, связанных с употреблением растительного отвара из цветков <i>Calendula officinalis</i> L., обработанной AuNPs, AgNPs и CuNPs	104
4.4. Выводы к Главе 4	106
5. ВЛИЯНИЕ МЕТОДА ВНЕСЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ <i>MENTHA SPICATA</i> L., МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА И НАКОПИТЕЛЬНУЮ СПОСОБНОСТЬ РАСТЕНИЙ.	108
5.1. Внесение наночастиц методом полива.....	108

5.1.1. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на биохимический статус растений	108
5.1.2. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на активность почвенной микробиоты.....	113
5.1.3. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на накопление серебра, золота и меди в почве и сегментах <i>Mentha spicata</i> L.	115
5.2. Внесение наночастиц методом опрыскивания	121
5.2.1. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на биохимический статус растений	121
5.2.2. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на накопление серебра, золота и меди в почве и сегментах <i>Mentha spicata</i> L.	124
5.3. Оценка рисков для здоровья человека, связанных с употреблением растительного отвара <i>Mentha spicata</i> L., обработанной AgNPs, AuNPs и CuNPs	129
5.4. Выводы к Главе 5	133
6. ВЛИЯНИЕ ОДНОКРАТНОГО ВНЕСЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ И НАКОПИТЕЛЬНУЮ СПОСОБНОСТЬ РАСТЕНИЙ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ.....	135
6.1. Накопление золота, серебра и меди в почве и сегментах растений и влияние на биохимический состав <i>Mentha spicata</i> L. при обработке AgNPs, AuNPs и CuNPs.....	135
6.2. Накопление серебра и меди в почве и сегментах растений и влияние на биохимический состав <i>Vaccinium myrtillus</i> L. обработки AgNPs и CuNPs.....	141
6.3. Выводы к ГЛАВЕ 6	147
ВЫВОДЫ И РЕКОМЕНДАЦИИ	149
БИБЛИОГРАФИЯ	153

АННОТАЦИЯ

Пешкова Александра, Оценка опасности некоторых металлических наночастиц для системы почва–почвенная микробиота–растения. Диссертация на соискание степени кандидата экологических наук, Кишинев, 2026.

Структура диссертации: Аннотация (на русском, румынском и английском языках), введение, 6 глав, выводы и рекомендации, библиография из 341 источников, 41 рисунок, 20 таблиц и 137 страниц основного текста. Результаты диссертации отражены в 14 научных публикациях.

Ключевые слова: аккумуляция; транслокация; биоконцентрация; оценка рисков; наночастицы; орошение; опрыскивание; биохимический состав; активность микробиоты.

Цель работы: Оценка потенциальной экологической опасности наночастиц Ag, Au и Cu для системы «почва–почвенная микробиота–растения» на основе изучения процессов их аккумуляции и транслокации, анализа влияния на физиолого-биохимические показатели растений и активность почвенной микробиоты.

Задачи исследования: исследовать процессы аккумуляции и распределения наночастиц Ag, Au и Cu в тканях растений в зависимости от способа внесения и концентрации; оценить влияние наночастиц Ag, Au и Cu на физиолого-биохимические параметры растений; оценить изменения активности почвенной микробиоты при воздействии наночастиц Ag, Au и Cu; исследовать транслокацию наночастиц Ag, Au и Cu в съедобные части растений и провести оценку рисков, связанных с употреблением потенциально загрязненной растительной продукции; провести оценку фитотоксичности Ag, Au и Cu в условиях, приближенных к естественным экосистемам; оценить санитарно-экологические риски, обусловленные контактом растений с наночастицами Ag, Au и Cu.

Научная новизна и оригинальность исследования: впервые выполнена комплексная экотоксикологическая оценка взаимодействия наночастиц Ag, Au и Cu с системой «почва–почвенная микробиота–растение». Установлены особенности их аккумуляции и транслокации в растениях при различных концентрациях и способах внесения, а также выявлено влияние на физиолого-биохимические показатели растений и функциональную активность почвенной микробиоты. Впервые в полевых условиях исследовано воздействие высоких концентраций наночастиц металлов на *Vaccinium myrtillus* L. и *Mentha spicata* L. и проведена оценка рисков их переноса в растительную продукцию.

Результат, который способствует решению научной проблемы: экспериментально установлены особенности аккумуляции и транслокации наночастиц Ag, Au и Cu в системе «почва–почвенная микробиота–растение», а также их влияние на физиолого-биохимические показатели растений и функциональную активность почвенной микробиоты, что позволило выявить зависимости «доза–эффект» и оценить риски трофического переноса металлических наночастиц к человеку.

Теоретическая значимость работы: полученные результаты расширяют представления о закономерностях взаимодействия металлических наночастиц Ag, Au и Cu с системой «почва–почвенная микробиота–растение», выявляя дозозависимые эффекты их воздействия на физиолого-биохимические показатели растений и функциональную активность почвенной микробиоты. Установлены концентрационные интервалы стимулирующего действия и пороговые уровни, вызывающие фитотоксические эффекты и потенциальные риски трофического переноса наночастиц.

Практическая значимость работы: полученные результаты могут быть использованы для обоснования экологически безопасного применения наночастиц Ag, Au и Cu в агротехнологиях. Установленные концентрационные интервалы стимулирующего действия и пороговые уровни фитотоксичности позволяют минимизировать риски загрязнения растительной продукции и подавления активности почвенной микробиоты.

ADNOTARE

Peshkova Alexandra, Evaluarea pericolului unor nanoparticule metalice pentru sistemul sol-microbiota edafică-plante. Teză de doctorat în științe ale mediului, Chișinău, 2026.

Structura tezei: rezumat (în limbile rusă, română și engleză), introducerea, 6 capitole, concluzii și recomandări, bibliografie din 341 de surse, 41 de figuri, 20 de tabele și 137 de pagini de text principal. Rezultatele disertației sunt reflectate în 14 publicații științifice.

Cuvinte-cheie: acumularea; translocație; bioconcentrarea; evaluarea riscurilor; nanoparticule; irigarea; pulverizare; compoziția biochimică; activitatea microbiotei.

Scopul tezei: evaluarea pericol potențial de mediu al nanoparticulelor de Ag, Au și Cu pentru sistemul sol-microbiotă de sol-plante, bazată pe studiul proceselor de acumulare și translocare a acestora, analiza impactului asupra parametrilor fiziologici și biochimici plantelor și activității microbiotei solului.

Obiectivele tezei: studierea proceselor de acumulare și distribuție a nanoparticulelor de Ag, Au și Cu în țesuturile vegetale în funcție de concentrație și metoda de aplicare ; evaluarea efectului nanoparticulelor de Ag, Au și Cu asupra parametrilor fiziologici și biochimici a plantelor; evaluarea modificărilor activității microbiotei solului sub influența nanoparticulelor de Ag, Au și Cu; studierea translocării nanoparticulelor de Ag, Au și Cu în părțile comestibile ale plantelor și evaluarea riscurilor asociate cu consumul produselor vegetale potențial contaminate; evaluarea fitotoxicității a Ag, Au și Cu în condiții apropiate de ecosistemele naturale; evaluarea riscurilor sanitare și de mediu cauzate de contactul plantelor cu nanoparticulele de Ag, Au și Cu.

Noutatea și originalitatea științifică: Pentru prima dată a fost realizată o evaluare ecotoxicologică complexă a interacțiunii nanoparticulelor de Ag, Au și Cu cu sistemul «sol–microbiotă edafică–plantă». Au fost stabilite particularitățile acumulării și translocării acestora în plante la diferite concentrații și în funcție de modalitățile de aplicare, precum și a fost evidențiat impactul asupra indicatorilor fiziologico-biochimici ai plantelor și asupra activității funcționale a microbiotei edafice. Pentru prima dată, în condiții de câmp, a fost investigat efectul concentrațiilor ridicate de nanoparticule metalice asupra speciilor *Vaccinium myrtillus* L. și *Mentha spicata* L. și a fost realizată evaluarea riscurilor de transfer al acestora în producția vegetală.

Rezultatul obținut care contribuie la soluționarea unei probleme științifice importante: Au fost stabilite experimental particularitățile acumulării și translocării nanoparticulelor de Ag, Au și Cu în sistemul «sol–microbiotă edafică–plantă», precum și influența acestora asupra indicatorilor fiziologico-biochimici ai plantelor și asupra activității funcționale a microbiotei edafice, ceea ce a permis evidențierea relațiilor de tip «doză–efect» și evaluarea riscurilor transferului trofic al nanoparticulelor metalice către om.

Semnificația teoretică a tezei: Rezultatele obținute extind cunoștințele privind legăturile interacțiunii nanoparticulelor metalice de Ag, Au și Cu cu sistemul «sol–microbiotă edafică–plantă», evidențiind efectele dependente de doză ale acestora asupra indicatorilor fiziologico-biochimici ai plantelor și asupra activității funcționale a microbiotei edafice. Au fost stabilite intervalele concentraționale cu efect stimulator și nivelurile-prag care determină efecte fitotoxice și riscuri potențiale de transfer trofic al nanoparticulelor.

Valoarea aplicativă a tezei: rezultatele obținute pot fi utilizate pentru a justifica utilizarea sigură din punct de vedere ecologic a nanoparticulelor de Ag, Au și Cu în tehnologiile agricole. Intervalele de concentrație stabilite pentru efecte stimulatorie și nivelurile prag de fitotoxicitate permit minimizarea riscurilor de contaminare a produselor vegetale și de suprimare a activității microbiotei din sol.

ANNOTATION

Peshkova Alexandra, Assessment of the hazard of metal nanoparticles for the soil-microbiota-plant system. PhD thesis in environmental sciences, Chisinau, 2026.

Structure of the thesis: abstract (in Russian, Romanian and English), Introduction, 6 Chapters, Conclusions and recommendations, Bibliography containing 341 sources, 41 figures, 20 tables and 137 pages of main text. The results of the dissertation are reflected in 14 scientific publications.

Keywords: accumulation; translocation; bioconcentration; risk assessment; nanoparticles; irrigation; spraying; biochemical composition; microbiota activity.

The aim of the thesis: assessment of the potential environmental hazard of Ag, Au and Cu nanoparticles for the soil-soil microbiota-plants system, based on the investigation of their accumulation and translocation, and analysis of their impact on the physiological and biochemical parameters of plants and the activity of soil microbiota.

The objectives of the thesis: to investigate the processes of accumulation and distribution of Ag, Au and Cu nanoparticles in plant tissues as a function of concentration and application route ; to evaluate the effect of Ag, Au and Cu nanoparticles on the physiological and biochemical parameters of plants; to evaluate changes in the activity of soil microbiota under the influence of Ag, Au and Cu nanoparticles; to estimate the translocation of Ag, Au and Cu nanoparticles into the edible parts of plants and assess the risks associated with the consumption of potentially contaminated plant products; to assess the phytotoxicity of Ag, Au and Cu under conditions close to those of natural ecosystems; to assess the sanitary and environmental risks caused by the contact of plants with Ag, Au and Cu nanoparticles.

The novelty and scientific originality: for the first time, a comprehensive ecotoxicological assessment of the interaction of Ag, Au, and Cu nanoparticles with the soil-microbiota-plant system was conducted. The characteristics of their accumulation and translocation in plants were determined for various concentrations and application routes and their impact on the physiological and biochemical parameters of plants, and the functional activity of the soil microbiota were evaluated. For the first time, the effects of high concentrations of metal nanoparticles on *Vaccinium myrtillus* L. and *Mentha spicata* L. were studied under field conditions, and the risks of their transfer to plant products were assessed.

A result that contributes to the solution of a scientific problem: The patterns of accumulation and translocation of Ag, Au, and Cu nanoparticles within the soil-soil microbiota-plant system were experimentally established, as well as their effects on the physiological and biochemical parameters of plants and the functional activity of soil microbiota, which made it possible to identify dose-effect relationships and assess the risks of trophic transfer of metallic nanoparticles to humans.

The theoretical importance of the work: the obtained results expand our understanding about interactions between Ag, Au, and Cu nanoparticles and the soil-microbiota-plant system, revealing dose-dependent effects on plant physiological and biochemical parameters, and the functional activity of soil microbiota. Concentration ranges for stimulating effects and threshold levels for phytotoxic effects and potential risks of trophic transfer of nanoparticles have been established.

The applied value of the work: the obtained results can be used to justify the environmentally safe use of Ag, Au, and Cu nanoparticles in agricultural technologies. The established concentration ranges for stimulating effects and threshold levels of phytotoxicity help to minimize the risks of plant product contamination and suppression of soil microbiota activity

.СПИСОК ТАБЛИЦ

Таблица 2.1. Методы, используемые для определения содержания металлов в почвенных и растительных образцах	60-61
Таблица 3.1. Коэффициенты транслокации (КТ) и биоконцентрации (КБК) для сегментов петрушки, выращенной в почве, обработанной AuNPs и CuNPs.	77
Таблица 3.2. Коэффициент транслокации меди и золота в сегментах петрушки, подверженной внекорневой обработке AuNPs и CuNPs.	82
Таблица 3.3. Расчетные значения ОСД и КО для зеленых частей петрушки, обработанных AuNPs и CuNPs.	84
Таблица 4.1. Высота растений календулы, выращенной в почве, обработанной AuNPs, AgNPs и CuNPs.	88
Таблица 4.2. Коэффициенты транслокации и биоконцентрации для сегментов календулы, выращенной в почве, обработанной AuNPs, AgNPs и CuNPs.	95-96
Таблица 4.3. Расчетные значения ОСД и КО, рассчитанный при употреблении настоя, приготовленного из цветков календулы, обработанных AgNPs, AuNPs и CuNPs прикорневым и листовым способами.	105
Таблица 5.1. Коэффициенты транслокации и биоконцентрации для сегментов мяты, выращенной в почве, обработанной AuNPs	117
Таблица 5.2. Коэффициенты транслокации и биоконцентрации для сегментов мяты, выращенной в почве, обработанной AgNPs	118
Таблица 5.3. Коэффициенты транслокации и биоконцентрации для сегментов мяты, выращенной в почве, обработанной CuNPs	119
Таблица 5.4. Коэффициенты транслокации для сегментов мяты, подверженной листовой обработке AuNPs	126
Таблица 5.5. Коэффициенты транслокации для сегментов мяты, подверженной листовой обработке AgNPs	126
Таблица 5.6. Коэффициенты транслокации для сегментов мяты, подверженной листовой обработке CuNPs	127
Таблица 5.7. Содержание золота в настое, приготовленного из листьев мяты колосистой после обработки AuNPs.	129
Таблица 5.8. Содержание серебра в настое, приготовленного из листьев мяты колосистой, обработанных AgNPs.	130
Таблица 5.9. Содержание меди в настое, приготовленного из листьев мяты колосистой, обработанных CuNPs.	130-131
Таблица 5.10. Расчетные значения ОСД и КО, рассчитанный при употреблении настоя, приготовленного из листьев мяты, обработанных AgNPs, AuNPs и CuNPs прикорневым и листовым способами.	131-132
Таблица 6.1. Коэффициенты транслокации и биоконцентрации для сегментов мяты колосистой, обработанной AgNPs, AuNPs и CuNPs прикорневым способом.	137
Таблица 6.2. Коэффициенты транслокации и биоконцентрации (для сегментов черники обыкновенной, обработанной AgNPs и CuNPs прикорневым способом.	143-144
Таблица 6.3. Расчетные значения ОСД и КО при употреблении ягод черники, обработанных AgNPs и CuNPs.	147

СПИСОК РИСУНКОВ

Рисунок 2.1. Схема проведения экспериментов	57
Рисунок 3.1. ПЭМ изображения (а) AuNPs, (б) AgNPs и (в) CuNPs, а также распределение наночастиц по размерам.	69
Рисунок 3.2. Изменение содержания каротиноидов и общего хлорофилла по отношению к контролю в надземных частях петрушки, выращенной в почве, обработанной (а) AuNPs и (б) CuNPs.	71
Рисунок 3.3. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из надземных частей петрушки, выращенной в почве, обработанной (а) AuNPs и (б) CuNPs.	72
Рисунок 3.4. Измерение содержание малонового диальдегида в листьях петрушки в условиях прикорневого воздействия (а) AuNPs и (б) CuNPs.	73
Рисунок 3.5. Изменение скорости дыхания микробиоты в почве, на которой росли растения петрушки, обработанные путем полива (а) AuNPs и (б) CuNPs.	74
Рисунок 3.6. Содержание золота и меди в сегментах петрушки, выращенной в почве, обработанной (а) AuNPs и (б) CuNPs.	76
Рисунок 3.7. Изменение содержания каротиноидов и общего хлорофилла в надземных частях петрушки, подверженной листовой обработке (а) AuNPs и (б) CuNPs.	79
Рисунок 3.8. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из надземных частей петрушки, подверженной листовой обработке (а) AuNPs и (б) CuNPs.	79
Рисунок 3.9. Изменение содержания малонового диальдегида в листьях петрушки в условиях листового воздействия (а) AuNPs и (б) CuNPs.	80
Рисунок 3.10. Содержание золота и меди в почве и сегментах петрушки, подверженной листовой обработке (а) AuNPs и (б) CuNPs.	81
Рисунок 4.1. Внешний вид растений <i>Calendula officinalis</i> L. при корневой обработке растворами наночастиц металлов (перечисление слева направо) (а) контроль (без обработки), (б) CuNPs 1-10 мг/л, (в) CuNPs 50-100 мг/л, AuNPs 1 мг/л, (г) AuNPs 5-50 мг/л, (д) AuNPs 100 мг/л, AgNPs 1-5 мг/л, (е) AgNPs 10-100 мг/л, (ж) деформация лепестков после обработки AuNPs 5 мг/л	88
Рисунок 4.2. Изменение содержания общего хлорофилла и каротиноидов в листьях календулы, в случае прикорневой обработки (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs	89
Рисунок 4.3. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из листьев календулы, подверженной обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs путем орошения.	90
Рисунок 4.4. Изменение содержания фенолов в листьях календулы в условиях прикорневого воздействия (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	91
Рисунок 4.5. Изменение содержания малонового диальдегида в листьях календулы в условиях прикорневого воздействия (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	92
Рисунок 4.6. Изменение скорости дыхания микробиоты в почве, обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	93
Рисунок 4.7. Содержание серебра, золота и меди в почве и сегментах календулы, выращенной в почве, обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs путем орошения.	94

Рисунок 4.8. Изменение содержания хлорофилла и каротиноидов в листьях календулы, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	98
Рисунок 4.9. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из листьев календулы, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	99
Рисунок 4.10. Изменение содержания фенолов в экстрактах, полученных из листьев календулы, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	100
Рисунок 4.11. Измерение содержание малонового диальдегида в листьях календулы в условиях листовой обработки (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	101
Рисунок 4.12. Содержание серебра, золота и меди в почве и сегментах календулы, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	102
Рисунок 5.1. Изменение содержания каротиноидов и общего хлорофилла в надземных частях мяты колосистой, выращенной в почве, обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	109
Рисунок 5.2. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из надземных частей мяты колосистой, выращенной в почве, обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	111
Рисунок 5.3. Изменение содержания малонового диальдегида в экстрактах, полученных из листьев мяты, подверженной обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	112
Рисунок 5.4. Изменение скорости дыхания микробиоты в почве, обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	114
Рисунок 5.5. Содержание серебра, золота и меди в почве и сегментах мяты, выращенной в почве, обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	116
Рисунок 5.6. Внешний вид растений <i>Mentha spicata</i> L. при корневой обработке раствором AgNPs 5 мг/л.	117
Рисунок 5.7. Изменение содержания каротиноидов и общего хлорофилла в листьях мяты, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	121
Рисунок 5.8. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из листьев мяты, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	123
Рисунок 5.9. Изменение содержания малонового диальдегида в экстрактах, полученных из листьев мяты, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	124
Рисунок 5.10. Содержание золота и меди в почве и сегментах мяты, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	125
Рисунок 6.1. Содержание серебра, золота и меди в сегментах мяты колосистой, подверженной прикорневой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	136
Рисунок 6.2. Изменение содержания каротиноидов и общего хлорофилла в надземных частях мяты колосистой, выращенной в полевых условиях и обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs относительно контроля.	139
Рисунок 6.3. Изменение содержания аскорбиновой кислоты и глутатиона в надземных частях мяты колосистой, выращенной в полевых условиях и обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.	140

Рисунок 6.4. Содержание серебра и меди в сегментах черники обыкновенной, подверженной обработке (а) AgNPs и (б) CuNPs.	143
Рисунок 6.5. Изменение содержания хлорофилла и каротиноидов в листьях черники обыкновенной, обработанной растворами (а) AgNPs и (б) CuNPs.	144
Рисунок 6.6. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из листьев черники обыкновенной, обработанной (а) AgNPs и (б) CuNPs.	145
Рисунок 6.7. Измерение содержание малонового диальдегида в листьях черники (а) AgNPs и (б) CuNPs	146
Рисунок 6.8. Изменение содержания фенолов в листьях черники (а) AgNPs и (б) CuNPs	146

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ABTS	— 2,2-азино-бис (3-этилбензотиазолин-6-сульфоновая кислота)
AgNPs	— наночастицы серебра
AuNPs	— наночастицы золота
CuNPs	— наночастицы меди
DPPH	— 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил
GSH	— глутатион
$k\theta$ -НАА	— $k\theta$ -нейтронный активационный анализ
PIGE	— метод протонно-индуцированной гамма-эмиссии
PIXE	— метод протон-индуцированной рентгеновской эмиссии
AAS	— атомно абсорбционная спектрометрия
АК	— аскорбиновая кислота
АФК	— активные формы кислорода
ДДС	— додецилсульфата натрия
ИСП-МС	— масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой
ИСП-ОЭС	— оптико-эмиссионной спектрометрия с индуктивно связанной плазмой
КБК	— коэффициент биологической концентрации
КО	— коэффициент опасности
КТ	— коэффициент транслокации
МДА	— малоновый диальдегид
НЧ	— наночастицы
НМ	— наноматериалы
ОСД	— оценочная суточная доза
ПАК	— полиметакриловая кислота
ПВП	— поливинилпирролидон
ПММА	— полиметилметакрилат
ПЭГ	— полиэтиленгликоль
ПЭМ	— просвечивающая электронная микроскопия
СЭМ	— сканирующая электронная микроскопия

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и важность затронутой темы:

Металлические наночастицы (НЧ), обладая уникальными свойствами, находят широкое применение в различных отраслях промышленности, медицине, электронике, нефтяной отрасли, сельском хозяйстве, а также в области защиты окружающей среды [1–6]. НЧ благородных металлов (золота, серебра, платины), а также цинка, железа и меди, в современной биомедицине выступают в качестве многофункциональных платформ для адресной терапии онкологических заболеваний, высокочувствительной диагностики, усиления эффекта лучевой терапии, в качестве антимикробных агентов, а также систем для доставки лекарств и транспортировки генов [7]. Такие отрасли как строительство, автомобилестроение и энергетика, активнее применяют технологии с использованием НЧ для создания функциональных покрытий благодаря их экономической эффективности. Так, для формирования ультратонкого слоя (например, толщиной 50 нм) на площади 1 м² требуется всего 20–200 мг материала, что делает использование наноматериалов высокорентабельным [8]. Неорганические НЧ также используются при изготовлении косметических средств. Наночастицы оксида цинка и диоксида титана, диаметром более 20 нм, применяются в солнцезащитных кремах в качестве фильтров УФ-излучения, а НЧ кремния входят в состав средств, применяемых для ухода за волосами, кожей, губами [9,10].

Классические наноматериалы, такие как SiO₂, TiO₂, наносеребро формируют более 90% мирового объема производства. Наночастицы серебра, наиболее распространены в потребительских товарах, предполагаемые объемы производства наночастиц Ag составляют более 500 тонн в год. Наночастицы ZnO с годовым производством около 550 тонн занимают третье место среди металлосодержащих НЧ, уступая SiO₂ (5500 т/год) и TiO₂ (3000 т/год) [11]. Медь-содержащие наночастицы используются в сельском хозяйстве, производстве полимерных материалов, электронике, а также медицине - в составе противомикробных и ранозаживляющих средств [12–20]. НЧ обладают широким спектром применения в биомедицинской и фармацевтической областях благодаря своему размеру и большой площади поверхности. Наночастицы меди обладают выраженной фотолюминесцентной активностью и потенциалом для адресной доставки лекарственных средств [21]. Они также демонстрируют выраженную бактерицидную активность в отношении широкого спектра патогенов (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Enterobacter aerogenes*), а также противогрибковую активность против *Fusarium oxysporum* и *Phytophthora capsici* [22].

Наночастицы золота (AuNPs) находят применение в медицинской практике в качестве носителей лекарственных веществ, успешно используются для индукции локализованной гипертермии для разрушения опухолей или лучевой терапии рака, фотодинамической терапии, компьютерной томографии, а также используются в качестве носителей для адресной доставки лекарственных средств [23–25]. В последние годы AuNPs рассматриваются как перспективный материал для разработки биосенсоров для обеспечения пищевой безопасности. Благодаря своим оптическим и электрохимическим свойствам, они позволяют создавать инструменты для оперативного обнаружения и точной идентификации примесей и микроорганизмов в пищевых продуктах [26].

Биомедицинский потенциал наночастиц серебра (AgNPs) обусловлен их выраженной антимикробной и противоопухолевой активностью, также описывается способность AgNPs стимулировать остеогенез и заживление ран, повышать эффективность вакцин, а также оказывать противораковое и противодиабетическое действие. Было показано, что наночастицы серебра эффективно подавляют различные патогенные грибы, вирусы и бактерии, включая *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* [27]. Производство функционализированных тканей, модифицированных наночастицами серебра, является одним из наиболее значимых направлений в области разработки умных материалов. В области оптических технологий AgNPs используются для нанесения покрытий на оптоволокно, что способствует снижению потерь сигнала и уровня шума [28]. В сфере охраны окружающей среды нано-серебро используется для обеззараживания воздуха, очистки грунтовых и сточных вод. В производстве дезинфицирующих материалов нано-серебро служит ключевым компонентом антимикробных красок, гелей, упаковочной бумаги для пищевых продуктов, а также используется для функционализации поверхности медицинских пластиковых катетеров с целью придания им бактерицидных свойств [29,30].

Благодаря выраженным бактерицидным, противогрибковым и антисептическим свойствам, наночастицы серебра включены в состав средств личной гигиены, таких как зубные пасты и шампуни, а также различных косметических продуктов. Наночастицы золота используются в антивозрастных кремах и масках для лица, способствуя улучшению регенерации и тонуса кожи, а также входят в состав лосьонов и антиперспирантов. Антимикробные свойства наночастиц меди (CuNPs) позволяют применять их при создании защитных фильтров и масок [9,22,30,31].

Таким образом, уникальные физико-химические свойства металлических наночастиц обусловили их широкое использование в различных отраслях, от биомедицины и электроники до производства функциональных материалов. Способность к контролируемой доставке активных агентов, выраженные антимикробные и

противогрибковые свойства, а также возможность контролируемого влияния на биохимические и физиологические процессы делают использование AuNPs, AgNPs и CuNPs перспективным для разработки нанопестицидов и наноудобрений. Это направление нацелено на решение ключевых задач сельского хозяйства, таких как повышение урожайности, борьба с фитопатогенами и минимизация экологической нагрузки [17,32].

Внесение НЧ металлов в почву и поливную воду способно обеспечить оптимизацию доставки питательных веществ к растениям, а также повысить их устойчивость к абиотическим и биотическим факторам [33]. В ряде исследований было показано, что AgNPs могут быть использованы для повышения урожайности сельскохозяйственных культур за счет улучшения показателей роста растений и прорастания семян [34–36]. Было установлено, что наноразмерные частицы серебра (диаметром до 100 нм), меди (25 нм) и оксида меди (менее 50 нм) подавляют рост грибковых культур [37]. Также было отмечено, что небольшие концентрации наночастиц серебра оказывают стимулирующее действие на проростки, а повышенные концентрации вызывают ингибирующий эффект для фасоли обыкновенной и кукурузы [38]. Обработка наночастицами золота семян озимого ячменя оказала положительное влияние на такие параметры, как высота растения, диаметр стебля, количество ветвей, количество колосков, количество семян [39].

Рост объемов производства и расширение сфер применения наночастиц обуславливают их неизбежное попадание в окружающую среду на всех стадиях жизненного цикла - от синтеза до утилизации. Наночастицы, содержащиеся в лакокрасочных материалах, текстиле, косметической продукции и предметах гигиены, мигрируют в экосистемы в зависимости от интенсивности их потребления. Это воздействие может затрагивать все структурные компоненты экосистем [40]. Выбросы наночастиц в атмосферу способствуют их оседанию на поверхности суши и водоемах, приводя к загрязнению почвы и донных отложений. Наноразмерные частицы способны переноситься в водные системы ветром или дождевыми стоками, а также поступать в растения, являющиеся неотъемлемым компонентом любой экосистемы [41–44].

Таким образом, несмотря на значительный агрономический потенциал, накопление наночастиц в почвах, а также непосредственный контакт с растениями создает риски, которые необходимо оценивать как для самих растений, так и для конечного потребителя сельскохозяйственной продукции. Для растений негативные эффекты могут проявляться в виде фитотоксичности, а для потребителя ключевой риск заключается в потенциальной транслокации и биоаккумуляции наночастиц в съедобных частях растений с их последующей миграцией в производные продукты (травяные отвары, фитопрепараты).

Антропогенные потоки инженерных наночастиц, включая их производство, применение в агросекторе и непреднамеренное высвобождение, представляют собой растущую угрозу для окружающей среды [45,46]. Очистные сооружения не обеспечивают их полного удержания: часть попадает в водоемы через сброс стоков, а другая - концентрируется в осадке. Последующий процесс сжигания этого осадка приводит к ремобилизации загрязнителей: наночастицы в составе летучей золы переносятся в атмосферу, осаждаясь на почве и поверхности водных объектов [47]. Разнообразие наночастиц, как природного, так и антропогенного происхождения, а также сложности, связанные с их количественным определением, затрудняет оценку общего содержания НЧ в компонентах окружающей среды. Согласно глобальным оценкам около 63–91% произведенных НЧ попадают на свалки, 8–28% накапливаются в почвах, 0,4–7% высвобождаются в водные объекты и 0,1–1,5% попадают в атмосферу [41,48]. Сообщается, что около 95% всего объема меди, выбрасываемой в окружающую среду, оказывается в почве и донных отложениях [49].

Растворение, биотрансформация и биодоступность наночастиц в почве регулируются такими факторами как тип почвы, pH и содержание органических веществ, что в свою очередь влияет на биогеохимические циклы почвы, популяцию, структуру и состав почвенных микроорганизмов, а также на взаимодействие между растениями и микроорганизмами [49]. Действие металлических НЧ на почвенные микроорганизмы определяется как свойствами самих частиц, так и физико-химическими характеристиками почвенной среды. Эффекты варьируют от ингибирования до стимуляции и специфичны в отношении разных таксонов. Известно что наночастицы серебра и меди оказывают выраженное ингибирующее действие на сообщества почвенных микроорганизмов [50–52], в то время как наночастицы золота (10 нм) в низких концентрациях (0,01–0,5 мкг/мл) не оказывают значимого влияния на ризосферные сообщества водно-болотных угодий, но вызывают слабовыраженную стимуляцию катаболической активности в суглинистой почве [53]. Отсутствие токсического воздействия наночастиц оксида железа (Fe_3O_4) размером 50–70 нм, в концентрациях 25 - 100 мг/л на штамм *Bacillus cereus var. fluorescens* CNMN-BB-07 было отмечено в исследованиях проведенных Батыр и Сланина [54].

Исследования, проведенные в Республике Молдова совместно с зарубежными коллегами, были посвящены изучению взаимодействия наночастиц с различными группами организмов. Серои и соавторами была установлена корреляция между количеством биомассы и содержанием малонового диальдегида в клетках красных микроводорослей *Porphyridium cruentum* под действием НЧ, оказывающих токсическое действие. На основании этой взаимосвязи малоновый диальдегид был предложен в качестве

биохимического маркера токсичности, а также проведена сравнительная оценка, показавшая, что токсичность исследованных наночастиц убывает в ряду $ZnSe > ZnS > CdSe$ [55]. Ciloci с соавторами изучено влияние ряда нанооксидов металлов на биосинтез протеолитических ферментов у микромицетов *Trichoderma koningii* CNMN FD 15 и *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12 [56]. В частности, был использован нано-оксид цинка в технологии культивирования микромицета *Trichoderma koningii* CNMN FD 15 с целью получения высокоактивного препарата внеклеточных протеаз. Как показали исследования, наночастицы ZnO наиболее эффективно усиливают каталитические свойства внеклеточных протеаз, активность кислых протеаз возрастает на 19–23,5%, а щелочных - на 14,3–17,5% [57]. Sirbu и соавторы установили, что присутствие наночастиц различной химической природы, в частности наночастицы Fe_2O_3 и Fe_2ZnO_4 , оказывают стимулирующее действие на микромицеты родов *Trichoderma* и *Penicillium* способствуя росту и накоплению биомассы в среде культивирования в присутствии трифлуралина [58,59]. В работе Postolachi с соавторами было изучено влияние наночастиц железа различной валентности (Fe_3O_4 и Fe^0) на формирование микробных сообществ под действием гербицида трифлуралина. Экспериментально подтверждено, что увеличение концентрации гербицида в среде приводило к снижению плотности и видового разнообразия микроорганизмов, при этом добавление НЧ железа смягчало наблюдаемый цитотоксический эффект для микробных консорциумов [60].

Фитоэффекты НЧ зависят от видов растения, дозы, продолжительности воздействия, способа экспозиции и физико-химических характеристик самих наночастиц [61,62]. В частности, Маслоброд с соавторами [63] было исследовано действие водных дисперсий наночастиц на семена пшеницы. Обработка семян наночастицами серебра и меди оказывала положительный эффект, выражавшийся в стимуляции энергии прорастания и проявлении фунгицидной активности [63]. Был продемонстрирован видоспецифичный характер воздействия наночастиц серебра на растения. В условиях гидропоники у проростков ячменя AgNPs способствовали увеличению длины корней, в то время как у салата было отмечено уменьшение этого показателя. При этом внесение AgNPs в почвенную среду не приводило к статистически значимым изменениям длины корней и листьев у исследуемых растений [64–66]. Исследования на салате и люцерне в условиях гидропоники подтвердили видоспецифичные реакции на медьсодержащие наночастицы. Хотя оба вида демонстрировали уменьшение длины корней, их минеральный состав изменялся разнонаправленно: в листьях салата снижалось содержание фосфора и железа, тогда как в биомассе люцерны наблюдалось увеличение концентрации серы, фосфора и меди [67]. При внекорневом применении CuNPs в концентрации 500 мг/л отмечены отрицательные

эффекты, в то время как более низкие концентрации положительно повлияли на твердость плодов томата, увеличили содержание витамина С и антиоксидантную активность [68].

Учитывая видовую специфичность реакции растений на металлические наночастицы, для дальнейших исследований были выбраны несколько растительных тест-объекта (*Petroselinum crispum* Mill., *Mentha spicata* L., *Calendula officinalis* L., *Vaccinium myrtillus* L.), представляющих интерес с точки зрения употребления в пищу, а также имеющих медицинское значение, используемых в качестве сырья для приготовления лекарственных травяных отваров.

Существующие исследования свидетельствуют о том, что металлы в форме наночастиц демонстрируют принципиально новые свойства по сравнению с их ионными формами, обладая значительно более высокой проникающей способностью в растительные ткани. Токсикологический ответ растений и эффективность поглощения наночастиц корневой системой определяются комплексом факторов, включая физико-химические параметры наноматериалов (размер, форма, поверхностные характеристики), видовые особенности растений и условия окружающей среды [69–72]. Установлена способность наночастиц к транслокации из ризосферы в надземные части растений с последующей аккумуляцией в клеточных и субклеточных органеллах, откуда по трофической цепи попадают в организм животных и человека. Способность наночастиц к транслокации и аккумуляции в растительных тканях, включение их в трофические цепи и потенциальное поступление в организмы консументов более высокого порядка требует комплексной оценки биологических эффектов [73–75]. Таким образом, для всесторонней оценки экологических и токсикологических рисков, необходимо проведение исследований, охватывающие всю цепь «почва - почвенная микробиота - растение - потребитель».

Цель работы заключается в оценке потенциальной экологической опасности наночастиц Ag, Au и Cu для системы «почва–почвенная микробиота–растения» на основе изучения процессов их аккумуляции и транслокации, анализа влияния на биохимические показатели растений и активность почвенной микробиоты.

Основные задачи работы:

1. Исследовать процессы аккумуляции и распределения наночастиц Ag, Au и Cu в тканях растений в зависимости от способа внесения и концентрации.
2. Оценить влияние наночастиц Ag, Au и Cu на некоторые биохимические показатели растений.
3. Оценить изменения активности почвенной микробиоты при воздействии наночастиц Ag, Au и Cu.

4. Исследовать транслокацию наночастиц Ag, Au и Cu в съедобные части растений и провести оценку рисков, связанных с употреблением потенциально загрязненной растительной продукции.
5. Провести оценку фитотоксичности Ag, Au и Cu в условиях, приближенных к естественным экосистемам.
6. Оценить санитарно-экологические риски, обусловленных взаимодействием растений с наночастицами Ag, Au и Cu

Гипотеза исследования:

При кратковременном поступлении наночастиц Ag, Au и Cu в систему «почва - почвенная микробиота - растение» происходит их аккумуляция в растительных тканях, приводящая к специфическим дозозависимым изменениям биохимических параметров растений и нарушению функциональной активности почвенной микробиоты, что в совокупности может представлять потенциальную угрозу для устойчивости наземных экосистем и здоровья человека.

Синтез методологии исследования и обоснование выбранных методов исследования:

Элементный состав образцов, описание наночастиц, биохимические показатели растений, а также функциональные параметры почвенных микроорганизмов исследовали с использованием современных аналитических методов. Качество пробоподготовки и измерений контролировали с помощью сертифицированных стандартных образцов. Исследование морфологических параметров (размер, распределение в растворе, форма) исходных наночастиц Au, Ag и Cu проводили методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) на микроскопе высокого разрешения Thermo Scientific Talos F200i, что обеспечило необходимую точность измерений. Определение содержания меди в образцах почвы, растительных тканях и травяных настоях проводили методом оптико-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-ОЭС) на спектрометре PlasmaQuant PQ 9000 Elite (Analytik Jena, Йена, Германия). Выбор данного метода обусловлен его способностью обеспечивать одновременный многоэлементный анализ с высокой чувствительностью, низкими пределами обнаружения и высокой производительностью, что отвечало требованиям исследования.

Количественный анализ серебра проводили с использованием нескольких независимых методов: атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС) с электротермической атомизацией на спектрометре Thermo Scientific iCE 3000 (Thermo Fisher Scientific, США), метода протонно-индуцированной гамма-эмиссии (PIGE) в специальной реакционной

камере для анализа ионного пучка (IBA) на установке Tandetron, мощностью 3 МВт (IFIN-НН, Мэгуреле, Румыния). Определение содержания золота в образцах было произведено с помощью масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС), PIGE, ААС, $k\theta$ -нейтронного активационного анализа ($k\theta$ -НАА). Метод ААС был выбран в качестве основного аналитического инструмента для определения Ag и Au, благодаря его исключительно высокой чувствительности, что критически важно для точного определения следовых количеств в сложных биологических матрицах. Использование ААС позволило работать с малым объемом образца, избежать матричных помех и обеспечить прямое определение концентрации в жидких пробах непосредственно после их приготовления. Ключевым преимуществом PIGE является возможность проведения неразрушающего анализа без сложной пробоподготовки, обеспечивающего высокую надежность и достоверность полученных данных. ИСП-МС использовался для анализа образцов благодаря своей высокой чувствительности, возможности многоэлементного анализа и способности работать с широким диапазоном концентраций. Метод нейтронного активационного анализа и метод PIGE, являющиеся неразрушающими методами, обладают высокой чувствительностью и низким пределом обнаружения золота. Выбранные методы позволили работать с малым количеством образцов. $k\theta$ -НАА был проведен на исследовательском реакторе Dalat (Далат, Вьетнам). Точность измерений была подтверждена международными стандартами.

Для проведения биохимических анализов растительной биомассы были выбраны стандартные спектрофотометрические методы, позволяющие количественно определить ключевые биохимические маркеры, такие как содержание пигментов, малонового диальдегида, фенолов и антиоксидантную активность. Измерения осуществляли с помощью спектрофотометра T60 Visible Spectrophotometer (PG Instruments Limited, Великобритания).

Оценку микробной активности почвы проводили путем измерения скорости эмиссии диоксида углерода (CO_2) методом закрытой динамической камеры с использованием инфракрасного газоанализатора Li-850 (LI-COR, США). Данный метод был выбран, из соображений, что базальное дыхание является прямым и наиболее информативным показателем суммарной метаболической активности почвенной микробиоты.

Для оценки способности растений поглощать и перемещать металлы были рассчитаны факторы биоконцентрации и транслокации. Для определения риска развития неканцерогенных эффектов для здоровья человека были произведены классические расчеты суточного потребления потенциально загрязненной растительной продукции и

коэффициента опасности. Достоверность полученных результатов подтверждена методами статистического анализа.

Краткое содержание разделов диссертации.

Диссертационная работа включает в себя вводную часть и 6 глав. Первая глава посвящена обзору и анализу современной литературы в области мирового использования наночастиц и возможных экологических проблем, связанных с наноматериалами. Во второй главе представлены материалы и методы, примененные при проведении исследований. Третья, четвертая и пятая главы посвящены анализу полученных экспериментальных данных лабораторных экспериментов, шестая – полевым экспериментам. В заключительном разделе описаны основные выводы диссертационной работы, приведены ссылки на библиографические источники.

Глава 1 содержит обзор способов синтеза и областей применения металлических наночастиц. В этой главе проанализированы основные источники поступления наноматериалов в окружающую среду и современные данные об их взаимодействии с живыми организмами, почвенной микробиотой и растениями. Особое внимание уделено анализу двойственного эффекта наночастиц, включающего как токсическое действие, так и потенциальное положительное влияние. На основании проведенного анализа сформулирована научная гипотеза, а также цели и задачи данного исследования.

В Главе 2 был обоснован выбор объектов исследования и представлены методики экспериментальной работы, приведены расчетные формулы для определения биохимических параметров растений (содержания пигментов и антиоксидантной активности), коэффициентов аккумуляции и транслокации металлов, а также показателей активности почвенных микроорганизмов. Представлены уравнения для оценки риска возникновения неканцерогенных эффектов для здоровья человека, связанного с употреблением потенциально загрязненной растительной продукции.

В главе 3, 4, 5 представлены результаты, характеризующие накопление и распределение золота, серебра и меди в растительных образцах *Petroselinum crispum* Mill., *Mentha spicata* L., *Calendula officinalis* L. Проанализировано влияние различных техник внесения и концентраций растворов наночастиц металлов на биохимические параметры растений. Установлено изменение содержания фотосинтетических пигментов (хлорофиллов а, b и каротиноидов), фенольных соединений, а также антиоксидантной активности. На основе лабораторных экспериментов оценена активность почвенной микробиоты в условиях прикорневого орошения растворами наночастиц. Также представлена оценка рисков, связанных с переносом наночастиц металлов в организм человека при употреблении потенциально загрязненной растительной продукции (листовая

зелень, ягоды, травяной настой). Проанализированы риски загрязнения почв и разработаны рекомендации по снижению негативного воздействия наночастиц на наземные экосистемы. По итогам сформулированы основные выводы.

В главе 6 представлены результаты полевых экспериментов, в ходе которых были исследованы реакции черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.) и мяты колосистой (*Mentha spicata* L.) на внесение наночастиц металлов. Уникальность методологии заключалась в однократном внесении высококонцентрированных растворов наночастиц меди и серебра в прикорневую часть черники, а также наночастиц меди, серебра и золота в прикорневую часть мяты. Поставленная схема опытов позволила оценить поведение и фитотоксичность наночастиц в условиях, моделирующих природное загрязнение.

В разделе «Выводы» обобщены основные результаты диссертационного исследования, сформулированы выводы, отражающие решение поставленных научных задач, и представлены уникальные результаты, вносящие вклад в развитие данной области знаний. На основе проведенной работы были разработаны практические рекомендации по снижению рисков, связанных с использованием наночастиц металлов.

1. НАНОЧАСТИЦЫ МЕТАЛЛОВ В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ: ИСТОЧНИКИ, МИГРАЦИЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ

1.1. Нормативно-правовая база и механизмы обеспечения нанобезопасности

Наноматериалы (НМ) в настоящее время занимают важное место в области научных инноваций и высоких технологий, обусловленное их уникальными и регулируемыми физико-химическими свойствами, что открывает широкие перспективы для их применения в разнообразных отраслях. За последние годы нано- и нанобиотехнологии превратились в одну из наиболее динамично развивающихся исследовательских областей, что закономерно приводит к значительному увеличению доли нанопродуктов на мировом рынке [11].

В соответствии с рекомендацией Европейской комиссии (10.06.2022), наноматериал определяется как природный, случайный или искусственный материал, содержащий частицы в несвязанном состоянии, в виде агрегата или агломерата, при условии, что для 50% или более частиц в числовом распределении размеров один или несколько внешних размеров находятся в диапазоне 1–100 нм [76].

Ключевой особенностью наночастиц, определяющей их специфические свойства, является высокое отношение площади поверхности к объему, что обуславливает повышенную биологическую и химическую активность по сравнению с объемными аналогами [77]. Широкое применение наноматериалов способно трансформировать большинство областей человеческой деятельности, обеспечив прогресс в таких секторах, как связь, здравоохранение, производство материалов и высокие технологии. Искусственно созданные наноматериалы находят применение во многих отраслях, включая аэрокосмическую и автомобильную промышленность, электронику, энергетику, медицину, химическое производство, строительство и пищевую промышленность [78]. Также наблюдается устойчивая тенденция к коммерциализации и присутствия нанопродукции на потребительском рынке, где ключевыми областями являются здравоохранение, энергосберегающие технологии и охрана окружающей среды [79].

Мировой рынок наноматериалов в целом, оцененный в 47,63 млрд долларов США в 2025 году, по прогнозам достигнет 117,83 млрд долларов США к 2030 году [80]. В рамках этого растущего сегмента отдельно выделяется рынок наночастиц меди, демонстрирующий устойчивый рост годового производства. Ожидается, что его объем к 2030 году составит около 4,5 млрд долларов США. США [81]. Рынок коллоидного золота, представляющего собой суспензию НЧ золота в жидкости, обусловлен его универсальностью и высоким спросом в различных высокотехнологичных секторах. Оценочная рыночная капитализация этого сегмента в 2023 году достигала 4 млрд долл. США, а к 2028 году, согласно прогнозам, может составить 6 млрд долл. США, что соответствует среднегодовому темпу роста более

7% [82]. Мировой объем рынка наночастиц серебра в 2020 году превысил 2 млрд долларов США. Согласно прогнозам, к 2027 году ожидается рост данного показателя с совокупным среднегодовым темпом на 14,5% [83].

Увеличение объемов производства и распространение продукции наноиндустрии сопровождается формированием специализированных информационных систем (реестров, баз данных), предназначенных для ее каталогизации и классификации. Наиболее разработанными и часто используемыми являются:

1. Реестр потребительских товаров на основе нанотехнологий (Nanotechnology Consumer Product Inventory, CPI). Он содержит информацию о 1833 товарах и обеспечивает открытый доступ к данным о потребительской продукции, созданной с применением нанотехнологий [84].

2. База данных Nanodatabase. База была создана в 2012 году и к настоящему времени содержит сведения о 5367 продуктах. Ресурс предоставляет возможности фильтрации по категориям товаров, типам примененных наноматериалов, странам-производителям и компаниям-изготовителям [85].

3. База данных наноматериалов Nanowerk (Nanomaterial Database). Является бесплатным онлайн-ресурсом, функционирующим с 2005 года. Объем базы данных составляет 5882 наименования наноматериалов, что делает ее одним из крупнейших открытых источников подобной информации [86].

4. Инновационная платформа Startbase. Реестр содержит сведения о 186 наименованиях продукции, созданной с применением нанотехнологий. Оператором платформы и держателем реестра выступает АО «РОСНАНО» [87].

Обеспечение безопасного применения наноматериалов при одновременном стимулировании развития рынка наноматериалов требует создания международной и национальной нормативной базы, разработки методов оценки их безопасности и механизмов обращения с наноматериалами. Однако, это оказалось сложной задачей из-за регулярного добавления новых материалов. Ключевой проблемой, обуславливающей отставание в разработке методов оценки безопасности, является то, что токсикологические свойства НЧ способны меняться при изменении морфометрических характеристик, поверхности и среды, в которую вводится данный наноматериал. Следовательно, даже НМ на основе одного и того же элемента могут демонстрировать принципиально разное поведение и биологическую активность. Несмотря на эти сложности, на международном и национальном уровнях в настоящее время действует ряд регламентирующих документов, ключевые из которых представлены ниже.

1. Европейский Союз (ЕС). Регламент 2015/2283 «О новых пищевых продуктах» устанавливает обязательные требования к использованию наноматериалов в пищевой продукции и ее упаковке на территории Европейского экономического пространства [88]. Дополнительно в ЕС наноматериалы регулируются в соответствии с положениями о регистрации, оценке, разрешении и ограничении использования химических веществ (REACH) и правилами классификации, маркировки и упаковки (CLP), когда они классифицируются Комиссией как опасные химические вещества [89,90]. Регламент REACH обязывает производителей регистрировать наночастицы и предоставлять подробные паспорта безопасности материалов, содержащие, в том числе, инструкции по их безопасной утилизации. Наноотходы, классифицированные как опасные, подлежат обработке в строгом соответствии с установленными протоколами для данного класса отходов [8].

2. В США регулирование наноматериалов и связанных с ними отходов осуществляется несколькими ключевыми федеральными ведомствами, которые устанавливают требования к их классификации, обращению и утилизации. Агентство по охране окружающей среды (EPA) осуществляет надзор в рамках Закона о сохранении и восстановлении ресурсов (RCRA), согласно которому, наноотходы официально признаются и регулируются как опасные отходы, если они демонстрируют характерные свойства: воспламеняемость, коррозионную активность, реактивность или токсичность. Дополнительные руководящие принципы EPA детализируют процедуры обращения, уделяя особое внимание надлежащей характеристике материалов и специальным методам утилизации. Управление по охране труда и здоровья (OSHA), в свою очередь, фокусируется на защите работников. Организация выпускает рекомендации по безопасному обращению с наноматериалами, устанавливая ориентиры по уровням профессионального воздействия. Ключевыми предписанными мерами контроля риска являются применение инженерных средств защиты и обязательное использование соответствующих средств индивидуальной защиты [11]. Регулирование использования наноматериалов также осуществляется в рамках существующих законодательных актов: Закона о контроле за токсичными веществами (TSCA) и Закона об инсектицидах, фунгицидах и родентицидах (FIFRA). Если наноматериалы используются в качестве пищевых добавок, лекарственных средств или косметики, они регулируются Федеральным законом FFDCA [8,89,90].

3. Страны СНГ. В 2013 году Межгосударственным советом Евразийского экономического союза по стандартизации, метрологии и сертификации был учрежден технический комитет МТК 441 «Нанотехнологии». В сферу его деятельности входит

стандартизация, метрологическое обеспечение, разработка терминологии и вопросов нанобезопасности [91,92].

4. На территории Китая государственное управление по регулированию рынка (SAMR) устанавливает процедуры оценки безопасности новых генетически модифицированных сельскохозяйственных продуктов, в том числе тех, которые используют нанотехнологии.

5. В Индии ключевым регулятором выступает министерство окружающей среды, лесов и изменения климата (MoEFCC). В соответствии с законодательством, MoEFCC имеет право контролировать использование, импорт, экспорт и производство опасных соединений, включая наноматериалы.

6. В Японии Министерство экономики, торговли и промышленности (METI) устанавливает обязательные требования для обращения с химическими веществами. Эти правила также определяют порядок безопасного обращения и утилизации наноматериалов.

7. Безопасная утилизация наноматериалов в Канаде обеспечивается Законом об охране окружающей среды (CEPA) и Министерством окружающей среды и изменения климата Канады (ECCC). Согласно CEPA, производители и импортеры должны предоставлять информацию о свойствах наноматериалов и способах их утилизации по окончании жизненного цикла. Министерство окружающей среды и изменения климата Канады (ECCC) дополняет правовые требования, разрабатывая принципы обращения с наноматериалами с акцентом на защиту от их воздействия на окружающую среду [11].

8. Международная стандартизация. Международной организацией по стандартизации (ISO) разработано Руководство по добровольной маркировке потребительской продукции, содержащей промышленные нано-объекты ISO/TS 13830:2013, которое устанавливает принципы добровольной маркировки потребительской продукции, содержащей промышленные нанообъекты. Данная техническая спецификация относится к этикетированию продукции, содержащей именно промышленные нано-объекты. Действие документа не распространяется на продукцию с природными или непреднамеренно образовавшимися нано объектами [93].

9. В Республике Молдова регулирование обращения наноматериалов осуществляется в рамках общей законодательной базы, регулирующей химические вещества, биоцидные продукты, пищевую и сельскохозяйственную продукцию, с постепенной гармонизацией с нормативными практиками Европейского союза. В соответствии с положениями Соглашения об ассоциации с ЕС внедряются принципы и подходы, аналогичные регламентам REACH и CLP, а также требованиям к безопасности

продукции, содержащей наноматериалы, что обеспечивает поэтапное формирование национальной системы регулирования в области нанобезопасности.

Существующие информационные системы направлены на минимизацию потенциальных рисков, связанных с растущим производством и применением наноматериалов, а также на обеспечение доступности соответствующих данных. В рамках стремительно развивающегося рынка наноматериалов особое место занимают металлические НЧ, чьи уникальные свойства обеспечивают им широкое применение. Наибольший исследовательский интерес среди них вызывают наночастицы Au, Ag и Cu. Будучи традиционно используемыми металлами, в наноразмерном состоянии они демонстрируют качественно новые физико-химические свойства, что обуславливает высокий потенциал их внедрения в таких значимых секторах, как биомедицина, электроника, энергетика и агропромышленный комплекс [78,79,94].

1.2. Области применения наночастиц металлов

Наночастицы металлов получили широкое распространение в различных отраслях благодаря их уникальным физико-химическим свойствам. Они применяются в производстве косметики, солнцезащитных средств, лакокрасочных материалов, функционального текстиля, катализаторов, полупроводников, автомобильных шин, биопестицидов, фитостимуляторов и фармацевтических препаратов. Несмотря на высокую стоимость, выступающую в качестве основного ограничивающего фактора, наноматериалы находят все более широкое применение в аэрокосмической, автомобильной и химической промышленности, электронике, энергетике, медицине, аграрном секторе а также при создании фильтров мембран для очистки воды [45,78]. В строительном секторе наноматериалы применяются практически во всех элементах зданий, преимущественно их применение связано с тремя основными типами продуктов: бетоном, покрытиями и красками, а также изоляцией [78].

Интеграция применения наноматериалов в агропромышленный комплекс охватывает четыре ключевых направления: сельскохозяйственное производство, переработку сырья, упаковку и создание пищевых добавок. В агропромышленном секторе разработка нанопестицидов направлена на повышение эффективности и снижение экологической нагрузки различных агротехнологий. Данные системы, основанные на наноразмерных активных соединениях и носителях (нанокапсулы, наноэмульсии), способствуют лучшей адгезии к растениям, целевому высвобождению, каталитическому разрушению остатков, уменьшению воздействия на нецелевые растения и животных, а также сокращению количества применяемых пестицидов. Дополнительные разработки включают наносенсоры для детекции патогенов и мониторинга почвы, наночипы для

прослеживаемости продукции и нанокапсулы для контролируемой доставки вакцин, нутриентов и гормонов роста [78,95,96].

Применение наноматериалов в медицине рассматривается как перспективное направление для усовершенствования существующих и разработки инновационных методов терапии онкологических заболеваний. С помощью наночастиц можно достичь важных целей в терапии рака, таких как снижение побочных эффектов от вводимых лекарств, возможность создания множества нанопрепаратов для доставки лекарств, а также целенаправленное воздействие на опухолевые клетки и их уничтожение [97].

В зависимости от состава, инженерные наночастицы подразделяют на углеродсодержащие, органические и неорганические. К углеродсодержащим наночастицам относятся фуллерены, графен, технический углерод, углеродные нанотрубки и углеродное нановолокно. Органические наночастицы представлены полимерными структурами, такими как дендримеры, мицеллы, липосомы и ферритин, которые активно исследуются в качестве систем направленной доставки лекарственных средств [98].

К неорганическим наночастицам относятся металлы и их оксиды. Наиболее распространенными металлами для синтеза наночастиц являются алюминий, кобальт, кадмий, золото, серебро, медь, железо, свинец и цинк. Среди оксидов металлов широкое применение находят наночастицы оксида алюминия (Al_2O_3), оксида церия (CeO_2), оксида железа (Fe_2O_3), магнетита (Fe_3O_4), диоксида кремния (SiO_2), диоксида титана (TiO_2) и оксида цинка (ZnO) [98]. Кремниевые наночастицы служат универсальным инструментом для улучшения методов медицинской визуализации. Благодаря возможности функционализации флуоресцентными красителями или контрастными агентами, они эффективно применяются в качестве зондов для флуоресцентной визуализации, компьютерной и магнитно-резонансной томографии [99]. Кремниевые наночастицы также находят применение в сельском хозяйстве в качестве эффективных наноудобрений, нанопестицидов и систем доставки благодаря своим структурным свойствам и биосовместимости. Их использование способствует усилению роста растений, повышению устойчивости к абиотическим стрессам и защите от патогенов, являясь при этом нетоксичной и эффективной альтернативой для борьбы с болезнями растений [100]. Наночастицы диоксида кремния также активно применяются в потребительской продукции. Они используются в качестве функциональных добавок в косметике (например, губной помаде, средствах по уходу за кожей и волосами, зубной пасте), а также в технологических процессах, таких как упаковка и производство тонеров для принтеров [10].

Металлические наночастицы на основе железа, золота, серебра, платины, цинка применяются для диагностики рака, обнаружении патогенных микроорганизмов, в качестве антимикробных и антиоксидантных агентов [94], при изготовлении косметических средств [10]. Наночастицы оксида цинка (ZnO) и диоксида титана (TiO₂), диаметром более 20 нм применяются в солнцезащитных кремах в качестве неорганических фильтров УФ-излучения [9].

Наночастицы металлов представляют собой перспективный инструмент для повышения продуктивности и устойчивости агроэкосистем. Их внесение в почву и поливную воду позволяет оптимизировать доставку питательных элементов к растениям и усилить их резистентность к абиотическим (засуха, засоление) и биотическим (патогены) стрессам [33]. В ряде исследований сообщалось об эффективности использования металлических НЧ, включая диоксид титана (TiO₂), оксид железа (Fe₃O₄), оксид цинка (ZnO), оксид кремния (SiO₂), медь (CuNPs) и селен (SeNPs), благодаря их безопасному применению в сельском хозяйстве, повышая устойчивость растений к биотическим и абиотическим стрессам, в том числе в условиях засухи [101–105]. Yasmeen и соавторы [102] показали, что медь- и железосодержащие НЧ значительно улучшают длину колоса, соотношение зерно/колос и вес зерна растений пшеницы. Van Nguyen и соавторы [103] сообщили, что применение нано-CuO увеличивает содержание каротиноидов в растениях кукурузы, тем самым повышая эффективность фотосинтетической деятельности. Показано также, что листовая обработка медьсодержащими НЧ повышает солеустойчивость томата за счет активации антиоксидантной системы растений [104]. Перспективным направлением является использование наночастиц в качестве нано-капсул для направленной транспортировки и контролируемого высвобождения гербицидов, удобрений и генетического материала в специфические ткани растений [105].

Благодаря выраженным бактерицидным, противовирусным, противогрибковым свойствам, серебро и нано-серебро находят широкое применение в различных областях, в том числе в медицине. Исследования подтверждают их эффективность в стимуляции заживления ран и костных тканей, а также в повышении иммуногенности вакцин [27]. В косметической промышленности наночастицы серебра используются в составе лосьонов, антиперспирантов, антивозрастных кремов и масок для лица. Благодаря антимикробной активности их применяют в зубных пастах и шампунях в качестве консервирующих добавок [9,31]. Перспективным направлением является применение наночастиц меди для создания функциональных композитных материалов с заданными свойствами. Например, метод ультразвукового облучения позволил получить нанокомпозиты на основе полианилина с равномерно диспергированными частицами меди и нанокристаллического

Cu₂O [106]. Другим примером служит целлюлозный нанокомпозит с противомикробными свойствами, полученный путем осаждения медьсодержащих наночастиц на гидрогелевые мембраны. Полученный материал продемонстрировал выраженную антимикробную активность в отношении тест-культур *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Salmonella spp.* [107].

Наночастицы серебра играют значительную роль в экологических технологиях, включая дезинфекцию воздуха, очистку грунтовых и сточных вод. В области обработки поверхностей их используют при создании антимикробных красок, функционализации поверхности медицинских катетеров, производстве противомикробных гелей и упаковочных материалов для пищевых продуктов [29,30]. Широкое распространение AgNPs получили в качестве противомикробных добавок в моющих средствах, пищевой упаковке и текстильной промышленности. В частности, в производстве одежды их применение позволяет эффективно ограничивать рост бактерий, вызывающих неприятные запахи [23,108].

Несколько исследований показали, что нано серебро может быть использованы для повышения урожайности сельскохозяйственных культур за счет стимуляции ростовых процессов и улучшения показателей прорастания семян [34–36]. Листовая обработка растений пажитника (*Trigonella foenum-graecum*) растворами AgNPs в концентрациях 20, 40 и 60 мг/л оказала комплексное положительное влияние на фотосинтетические пигменты (хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, каротиноиды), улучшила количество урожая, антиоксидантную активность и качество полученных семян (содержание углеводов, белков, дубильных веществ, флавоноидов и фенолов) [109]. Было показано, что наночастицы серебра и меди эффективны в улучшении роста, урожайности и качества семян *Brassica napus* L. сорта CON-1. Применение 25 мг/л этих наночастиц привело к значительному увеличению урожайности семян и содержания масла, одновременно снижая содержание нежелательных жирных кислот [110].

Благодаря уникальному сочетанию свойств, таких как биосовместимость, нетоксичность и легкость модификации поверхности AuNPs стали универсальной платформой в биомедицине. AuNPs используются для сверхчувствительной диагностики в биосенсорике и биовизуализации, а также для высокоточных методов лечения, таких как фототермическая и фотодинамическая терапия рака. Возможность функционализации НЧ различными лигандами делает их идеальными системами для целенаправленной доставки лекарств и создания антимикробных или антиоксидантных агентов [23,24,111–113].

Перспективным направлением является применение наночастиц в сельском хозяйстве в составе наноудобрений, которые могут вноситься методами листовой

подкормки или корневого орошения [114–119]. Исследования демонстрируют преимущества листового внесения питательных элементов перед традиционным почвенным внесением [120–122]. Экспериментально подтверждена эффективность AuNPs при опрыскивании листьев *Brassica juncea* в полевых условиях. AuNPs стимулировали ростовые показатели и урожайность (высота растений, диаметр стебля, количество ветвей и стручков) [39]. Обработка семян *Gloriosa superba* AuNPs в концентрации 1000 мкМ повышала скорость прорастания и интенсивность роста [123].

Устойчивость золотых наночастиц к окислению делает их очень подходящими для производства проводящих чернил. Золотые наночастицы находят специализированное применение в создании спектрально-селективных оптических покрытий. В отличие от традиционных металлических пленок, покрытия из дискретных AuNPs блокируют свет не за счет отражения, а за счет поглощения благодаря явлению поверхностного плазмонного резонанса [124]. Наночастицы золота также находят применение в косметической промышленности, входя в состав антивозрастных кремов, лосьонов и антиперспирантов. Использование AuNPs способствует регенерации кожных покровов и улучшению состояния кожи. Размер частиц, применяемых в косметологии, варьирует в диапазоне 5-400 нм [9,31].

Наночастицы меди широко используются в различных отраслях промышленности: в строительстве - для улучшения антикоррозионных свойств стальных конструкций и снижения шероховатости поверхности [125], применяются для создания композитов и сверхпрочных материалов [126], используются в качестве добавок к смазочным материалам для снижения коэффициента трения и повышения износостойкости [43,127–130]. Они также используются в электронике, при производстве полимеров, в медицине как противомикробные и ранозаживляющие средства, в текстильной промышленности [12–16,129,131], применяются в составе стоматологических материалов и бактерицидных агентов [18,132].

Медь относится к числу жизненно необходимых микроэлементов, играющих ключевую роль в метаболических процессах растений, включая фотосинтез, дыхание и антиоксидантную защиту. В связи с этим наночастицы меди находят все более широкое применение в агротехнологиях. На их основе разрабатываются новые формы удобрений и средств защиты растений [17,20,68].

Поглощение питательных элементов корневой системой растений часто лимитируется процессами вымывания, иммобилизации в почве и другими потерями. Листовая подкормка представляет собой альтернативный метод питания, позволяющий минимизировать указанные ограничения [122]. Данный подход демонстрирует

повышенную эффективность доставки микро- и макроэлементов по сравнению с традиционным почвенным внесением, а также способствует снижению фитотоксичности применяемых агрохимикатов [120]. Экспериментально подтверждена эффективность листового применения CuNPs в диапазоне концентраций 50-500 мг/л. Обработка растений томата растворами CuNPs способствовала повышению твердости плодов, что положительно сказалось на их лежкости при хранении [68].

В настоящее время активно исследуется возможность применения отходов базальтовой пыли, преимущественно состоящей из SiO_2 , Al_2O_3 и Fe_2O_3 и содержащей в своем составе медь, кадмий, хром и цинк, в качестве наноудобрений. Однако сохраняется серьезная озабоченность относительно потенциального токсического воздействия наноразмерной пыли на компоненты окружающей среды и здоровье человека, особенно при использовании в урбанизированных территориях [133]. Также идут дискуссии о применении медных НЧ в пищевой упаковке в целях подавления роста микроорганизмов, вызывающих порчу пищевых продуктов. С одной стороны, упаковка, содержащая наночастицы, может увеличить срок годности продуктов, а с другой, остается недостаточно изученной миграция наноматериалов из упаковочных материалов в пищевую матрицу и их потенциальное влияние на организм человека [134].

Представленный обзор областей применения подтверждает, что наночастицы золота, серебра и меди занимают особое место среди металлических наноматериалов благодаря уникальному комплексу физико-химических свойств. Поскольку функциональные характеристики Au, Ag и Cu в наноразмерном состоянии непосредственно зависят от условий их получения, далее будут рассмотрены основные методы синтеза наночастиц, позволяющие целенаправленно изменять их размерные параметры, форму и, как следствие, сферы практического использования.

1.3. Способы получения наночастиц металлов

Современная наука предлагает широкий спектр методов получения наноразмерных частиц, которые принято классифицировать на физические, химические и биологические. Выбор конкретного подхода позволяет целенаправленно регулировать морфологию, размеры и функциональные свойства синтезируемых наночастиц, а также обеспечивать их стабильность и устойчивость к агрегации.

К физическим методам получения наночастиц относится конденсация в инертном газе, дуговой разряд, ионное распыление, лазерная абляция, лазерный пиролиз, струйный пиролиз плазменные методы. Наиболее распространенными химическими методами изготовления наночастиц являются восстановление, термолиз, сольвотермический, электрохимический и фотохимический синтез и др. Биологические методы основаны на

использовании живых организмов (бактерий, грибов, дрожжей, растений) для биосинтеза наночастиц. Данный подход успешно применяется для получения инженерных наночастиц золота, серебра, платины, а также оксидов титана и циркония [44,135–138].

Различия в подходах к синтезу обуславливают их преимущества и ограничения, что определяет выбор метода для конкретных прикладных задач. Синтез наночастиц с заданными свойствами представляет собой сложный процесс, зависящий от ряда факторов, связанных с параметрами технологического процесса, характеристиками целевого продукта и экономические критерии. Физические методы синтеза НЧ металлов характеризуются рядом существенных преимуществ, к числу которых относится высокая степень чистоты получаемых материалов, обусловленная отсутствием химических реагентов, а также возможность точного регулирования размера и формы частиц путем изменения технологических режимов. Химические методы являются основой для крупномасштабного промышленного производства благодаря высокой производительности, воспроизводимости и относительно низкой себестоимости. К числу основных ограничений химического синтеза относится применение токсичных восстановителей и органических растворителей, приводящее к образованию опасных побочных продуктов. К числу основных ограничений физических методов синтеза металлических НЧ относятся высокая энергоемкость процессов, а также низкая производительность. Биологические методы представляют особую ценность для получения биосовместимых наночастиц в условиях, где ключевыми критериями являются экологическая безопасность процесса и отсутствие токсичности получаемого продукта, однако, по сравнению с химическими методами, зеленый синтез обеспечивает меньший контроль над размером, формой и кристаллической структурой конечных наночастиц [139–141].

Ключевым этапом синтеза металлических наночастиц является их стабилизация. Стабилизирующие агенты, связываясь с поверхностью частиц, предотвращают агрегацию и обеспечивают контролируемую диспергируемость в различных средах. Наиболее распространенными стабилизаторами выступают синтетические полимеры, такие как поливинилпирролидон (ПВП), полиэтиленгликоль (ПЭГ), полиметакриловая кислота (ПАК), полиметилметакрилат (ПММА) и др. [142].

1.3.1. Получение наночастиц серебра

Одним из ключевых методов синтеза наночастиц серебра является лазерная абляция, ключевое преимущество которой заключается в отсутствии необходимости использования химических реагентов. При использовании данного метода серебряный лист, находящийся в растворе, подвергается воздействию лазерного излучения. Морфология и выход продукта

синтеза определяются рядом параметров, включая длину волны лазерного излучения, длительность лазерных импульсов, плотность потока лазерного излучения [32, 34]. Установлено, что размер и форма образующихся наночастиц серебра определяются соотношением концентраций ПАК и AgNO_3 [143].

Стабильные коллоидные растворы наночастиц серебра могут быть синтезированы методом химического восстановления его солей (например, AgNO_3) такими восстановителями, как водород, гидразин или боргидрид натрия, в присутствии поверхностно-активных веществ (ПАВ). В одном из исследований [138] представлен синтез наночастиц серебра восстановлением нитрата серебра боргидридом натрия (NaBH_4) с последующей стабилизацией частиц изомерными дикарбоксилатами - малеатом и фумаратом натрия. В работе [144] проанализировано образование нанопластин серебра в зависимости от схемы синтеза и установлена роль отдельных реагентов в процессе прямого химического восстановления.

Фотохимическое восстановление нитрата серебра под воздействием излучения ртутной лампы в присутствии дендримеров позволяет синтезировать наночастицы серебра с контролируемым размером около 7 нм [145].

Значительный потенциал демонстрируют методы биологического синтеза с применением водных экстрактов растений. В частности, экстракты листьев *Melilotus officinalis* L. (донник лекарственный), *Mentha piperita* L. (мята перечная) и *Angelica archangelica* (дягиль лекарственный) использовали для получения наночастиц серебра размером 10-80 нм с преобладанием сферической морфологии, обладающих подтвержденной антимикробной активностью [146]. Перспективным направлением является использование грибов для синтеза металлических наночастиц из их солей [135]. Было показано, что штамм дрожжей *Saccharomyces ellipsoideus* BDU - XR1 способен к эффективному биосинтезу сферических наночастиц серебра диаметром 17,2 нм в условиях темновой инкубации [147].

1.3.2. Получение наночастиц золота

Современные подходы к синтезу наночастиц золота включают ряд методов, ключевым из которых является восстановление тетрахлорзолотой кислоты (HAuCl_4), где в качестве восстановителей применяют различные реагенты: цитрат натрия, боргидрид натрия, аскорбиновую кислоту, амины, спирты и карбоновые кислоты [148]. Классическим методом синтеза является метод Туркевича, описанный в 1951 г. Данная методика предполагает использование цитрата натрия в качестве восстановителя и позволяет получать наночастицы золота размером около 10 нм [149]. Широкое распространение получил также метод Браст-Шиффрина, предназначенный для синтеза сферических

наночастиц золота размером 1-3 нм, стабилизированных тиолом. В основе метода лежит двухфазное восстановление AuCl_4 боргидридом натрия в присутствии алкантиола [150]. Перспективной является методика управления размером и морфологией наночастиц золота за счет варьирования состава растворителя в реакционной среде. В таких системах этанол выполняет функцию полярного растворителя, смесь этанола с водой служит реакционной средой, L-аскорбиновая кислота выступает в роли восстановителя, а поливинилпирролидон (ПВП) - стабилизатора. [151].

Биосинтез наночастиц золота может быть осуществлен за счет использования экстрактов растительных тканей, бактерий, дрожжей, актиномицетов, грибов. Например, внеклеточный синтез с применением морской водоросли *Sargassum wightii* позволил получить AuNPs размером 8-12 нм [152], использование бактерии *Escherichia coli* K12 - частицы диаметром около 50 нм [45], а фильтрат культуры гриба *Alternaria alternata* (FCF) обеспечивал восстановление HAuCl_4 с образованием AuNPs размером 12 ± 5 нм [153]. В другом исследовании для биосинтеза наночастиц золота и серебра использовали дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, где на синтез наночастиц золота потребовалось 24 часа контакта ионов золота с культурой, в случае с наночастицами серебра - 48 часов. Размер полученных золотых частиц составлял 20-100 нм, а наночастиц серебра - 5-20 нм [154].

1.3.3. Получение наночастиц меди

Синтез наночастиц меди осуществляется с использованием различных методов, включая сонохимическое и химическое восстановление, гидротермальный синтез, электрохимические методы, лазерную абляцию и биосинтез [139,155]. Получение устойчивых водных дисперсий наночастиц меди было описано в условиях стабилизации высокими концентрациями гидразина и мицеллами додецилсульфата натрия (ДДС). В результате синтеза были получены сферические частицы размером 30-90 нм, а также их агрегаты диаметром до 400 нм [156]. Другой подход описан в работе Беглецовой и соавторов [157], где наночастицы меди синтезировали восстановлением глюкозой в водном растворе с использованием поливинилового спирта в качестве стабилизатора. Полученные сферические наночастицы диаметром 20-130 нм демонстрировали стабильность в течение 3-4 недель [157].

Биосинтез наночастиц меди был успешно осуществлен с использованием экстракта листьев магнолии в качестве восстановителя сульфата меди ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Полученные наночастицы имели размер 45-110 нм. В исследовании была продемонстрирована высокая антибактериальная активность биосинтезированных частиц по сравнению с наночастицами, полученными химическими методами. Показано, что размер синтезируемых частиц может контролироваться варьированием концентрации

растительного экстракта и температуры реакционной среды [158]. Альтернативный биотехнологический подход предполагает использование бактерий. Так, штамм *Pseudomonas stutzeri* способен продуцировать кубические наночастицы меди размером 50-150 нм из растворов, моделирующих сточные воды гальванических производств [159].

Таким образом, методы получения наночастиц золота, серебра и меди позволяют целенаправленно задавать их ключевые характеристики для широкого спектра применений. При этом, увеличение производства и активное внедрение наноматериалов в различные отрасли, рассмотренные в предыдущих разделах, неизбежно ведет к их высвобождению в окружающую среду. В связи с этим, оценка реального содержания НЧ, поведения и трансформации в природных средах становится актуальной задачей для прогнозирования долгосрочных экологических последствий.

1.4. Содержание наночастиц в объектах окружающей среды

Наночастицы поступают в окружающую среду из природных и антропогенных источников. К природным источникам относятся вулканическая деятельность, лесные пожары и выветривание горных пород. Антропогенные источники подразделяются на две основные категории: целенаправленное производство инженерных наночастиц и непреднамеренные выбросы, образующиеся при добыче полезных ископаемых, сжигании топлива и мусора, сварочных работах, промышленном производстве, строительстве и в результате обращения с бытовыми отходами [45,160].

Важным источником поступления наночастиц в почву служит использование сточных вод и их осадков в сельском хозяйстве. Несмотря на существующие методические сложности в определении наночастиц в окружающей среде, исследования подтверждают, что орошение полей сточными водами и применение осадков в качестве мелиорантов представляют собой значимый путь загрязнения агроэкосистем. Сброс осадков сточных вод на свалки или сжигание на термических очистных сооружениях способствует попаданию НЧ в окружающую среду [40,48,108]. Данная практика приводит к тому, что соединения меди в конечном итоге накапливаются в почвах и донных отложениях, где их содержание может достигать потенциально токсичных уровней ($> 50\text{--}500$ мкг/л), что, в свою очередь, может оказывать негативное воздействие на почвенную микробиоту и высшие растения. Токсичность соединений меди, как правило, изменяется в следующей последовательности: $\text{Cu}^{2+} > \text{наночастицы Cu(0)} > \text{наночастицы Cu(OH)}_2 > \text{наночастицы CuO} > \text{соединения меди в микронном масштабе}$ [43].

Ежегодное поступление наночастиц TiO_2 в почвы Европы составляет 0,3-1,3 г/кг, а в почвы, обработанные осадком сточных вод (илом), - до 89,2 г/кг [48]. Согласно литературным данным, почвы и донные отложения аккумулируют до 95% всей меди,

поступающей в окружающую среду [49]. Так, в 2010 году при общем объеме производства в 200 млн тонн в почвы поступило 36 млн тонн наноразмерной меди. Эта тенденция обуславливает постоянное увеличение поступления меди в окружающую среду. Поведение, трансформация, биодоступность и потенциальная токсичность наночастиц в почвенной среде определяются комплексом абиотических и биотических факторов. НЧ способны влиять на биогеохимические циклы, изменять структуру и состав микробных сообществ, а также модулировать взаимодействия в системе «растение-микроорганизмы» [49]. Еще одним путем миграции наночастиц является их атмосферный перенос. Присутствие наночастиц в атмосферном воздухе приводит к их осаждению на различные поверхности, включая листовую поверхность растений, почву и водные объекты [40,161,162].

Ограниченность данных о выбросах и концентрациях НЧ в окружающей среде связана с методологическими трудностями их количественного определения. Согласно глобальным оценкам, на свалки поступает 63-91% производимых инженерных наночастиц, в то время как в водные системы попадает лишь 0,4-7% от общего объема [41]. Исследования демонстрируют присутствие наночастиц в различных средах. В осадке сточных вод в г. Шанхай были обнаружены наночастицы, размером 10 до 300 нм, содержащие Ti, Fe, Zn, Sn и Pb в диапазоне концентраций 10^7 - 10^{11} частиц/г [163]. В осадках сточных вод зафиксированы AuNPs размером 16 нм с концентрацией $1,38 \times 10^9$ частиц/кг [164]. В воде на очистных сооружениях г. Питерборо (Онтарио, Канада) выявлены AgNPs размером 9,3 нм и концентрацией 1900 нг/л [165].

В условиях методологических сложностей прямого количественного определения наночастиц в компонентах окружающей среды, методы математического моделирования приобретают ключевое значение для прогнозирования их концентраций, распределения и трансформации. Данные подходы не заменяют полностью экспериментальные измерения, но служат важным дополнением, позволяющим осуществлять оценку рисков и прогнозировать потенциальную экологическую нагрузку.

С учетом среднегодового расчетного потребления AuNPs в медицинских целях (540 кг в Великобритании и 2700 кг в США), прогнозируемые средние концентрации AuNPs в иле составляют 124 и 145 мкг/кг для Великобритании и США соответственно [166]. Модельные расчеты, выполненные Gottschalk и соавторами [48], позволили прогнозировать содержание наноматериалов в различных средах: годовой прирост содержания инженерных НЧ в почвах США и Европы, обработанных осадком сточных вод, составил для наночастиц TiO_2 42,0-89,2 мкг/кг, для нано-ZnO - 1,99-3,25 мкг/кг, для нано-Ag - 662-1571 нг/кг. Для нано частиц ZnO ключевыми путями поступления были перенос от производственных источников на очистные сооружения и последующее внесение осадка в почвы. Для нано-

TiO₂ и нано-Ag наибольший вклад вносили сточные воды, осадок сточных вод и захоронение отходов. Прогнозируемое содержание нано-серебра в поверхностных водах оценивается в 0,116 нг/л для США и 0,764 нг/л для Европы [48].

Также, вклад в загрязнение водных экосистем вносят потребительские товары. Прогнозируется, что в Европейском союзе до 15% всего серебра, поступающего в воду, может происходить из биоцидных пластмасс и текстиля [167]. НЧ, содержащиеся в красках, тканях, косметике и средствах личной гигиены, попадают в окружающую среду пропорционально интенсивности их использования [40]. Исследования показывают, что при стирке текстиля с AgNPs в водопроводную воду высвобождается до 15 мкг серебра, а в сверхчистую воду - до 155 мкг. Недостаточная очистка сточных вод способствует попаданию этих частиц в окружающую среду [108].

1.5. Влияние наночастиц на живые организмы

1.5.1. Влияние наночастиц на почву и почвенные микроорганизмы

Исследование поведения наночастиц в почвенных экосистемах являются очень актуальными на сегодняшний день. Почва является естественной матрицей и богата природными наночастицами как в виде дисперсных частиц, так и в виде агломератов/агрегатов [168]. Биологические показатели считаются ключевыми для оценки качества почвы, поскольку почвенные организмы непосредственно участвуют в процессах разложения органического вещества и круговорота питательных веществ. Присутствие НЧ оказывает влияние на почвенную микрофлору и систему «почва-микробиота-растение» в целом. В то же время, структурно-агрегатный состав почв, их окислительно-восстановительный потенциал и кислотно-основные свойства способны модифицировать поведение НЧ и, как следствие, модулировать проявление их токсических эффектов. Ряд исследований подтверждает более выраженное токсическое действие наночастиц металлов по сравнению с их макроаналогами [169].

Степень воздействия наночастиц на почвенные процессы зависит от их концентрации, типа почвы и ферментативной активности. Joško и соавторами [170] было изучено влияние НЧ ZnO, CuO, Cr₂O₃ и Ni на активность дегидрогеназы, уреазы, кислой и щелочной фосфатазы в двух типах почв с различными физико-химическими свойствами. Наиболее выраженное ингибирующее действие отмечено для нано-CuO. При этом уровень ингибирования или стимуляции ферментативной активности варьировал в зависимости от типа почвы, продолжительности экспозиции и размеров частиц [170]. Применение наночастиц оксидов никеля и железа привело к снижению общей численности бактерий и обилию бактерий рода *Azotobacter* в черноземе обыкновенном [171].

Особую роль во взаимодействии НЧ с биотой наземных экосистем играют микроорганизмы. Растения колонизированы разнообразными микроорганизмами, населяющими внутренние ткани, филлосферу и ризосферу. Ризосферные микроорганизмы, в частности, способны повышать устойчивость растений к абиотическим стрессам и стимулировать их развитие за счет улучшения поглощения питательных веществ и защиты от патогенов, хотя в ряде случаев они также могут выступать в роли фитопатогенов или факторов, угнетающих рост [172].

Ряд исследований посвящен влиянию НЧ на микромицеты [56–59]. Выявлена возможность повышения антифунгальной активности по отношению к патогенам, в зависимости от вариаций состава среды культивирования с помощью добавления в нее наночастиц. Так, для усиления биосинтеза протеаз микромицетами – *Trichoderma koningii* и *Fusarium gibbosum* в качестве наиболее эффективных стимуляторов могут быть использованы наночастицы смеси ZnO/MgO (1:4), ZnO и Fe₃O₄. В экспериментах с микромицетами выявлено, что для представителей рода *Trichoderma* наличие в среде культивирования наночастиц Fe₃O₄ (50-79 нм) и трифлуралина приводило к увеличению количества биомассы до 200% по отношению к контролю [59].

Исследования демонстрируют разнонаправленное действие НЧ на микробные сообщества. Показано, что НЧ оксида железа способны снижать токсичность трифлуралина для микроорганизмов и влиять на рост и развитие почвенных бактерий. Сравнительная оценка влияния НЧ Fe₂O₃ и Fe(0) на формирование микробных консорциумов выявила, что наночастицы магнетита проявляли цитотоксический эффект, тогда как нано-Fe(0) оказывали наиболее благоприятное воздействие на становление микробного сообщества [60].

Было отмечено, что токсикологический эффект НЧ для почвенных микроорганизмов зависит от свойств среды. При воздействии НЧ ZnO в лабораторных условиях было продемонстрировано, что их токсичность наиболее выражена в кислой почве, менее - в нейтральной и минимальна - в щелочной. В нейтральной почве, обработанной 1 мг/г ZnONPs, наблюдалось значительное ингибирование процесса аммонификации в течение трех месяцев, а угнетение дыхания - в первый месяц эксперимента [173].

1.5.2. Влияние наночастиц на растительные объекты

Накопление наночастиц в тканях растений вызывает серьезную озабоченность в связи с потенциальным переносом по трофической цепи и последующим воздействием на здоровье человека. Поглощенные корневой системой из почвы, НЧ способны транспортироваться в надземные органы и накапливаться в клеточных и субклеточных

органеллах, что определяется как видоспецифическими особенностями растения, так и множеством абиотических факторов [74].

Согласно одним из первых обзоров, посвященных токсикологии НЧ, клеточная стенка растений, грибов и водорослей служит первичным барьером на пути проникновения частиц в клетку [160]. Преодолев этот барьер, НЧ могут индуцировать повреждения различного характера: вызывать окислительный стресс за счет генерации активных форм кислорода (АФК), оказывать механическое воздействие (например, закупорку устьиц), а повреждать ДНК, белки, а также нарушать клеточный метаболизм [120].

На сорбцию НЧ листовой поверхностью и стабильность связывания могут оказывать влияние такие факторы, как морфология листьев, химический состав, количество воска и экссудата. Микроорганизмы, присутствующие на поверхности листьев также могут играть важную роль в сорбции и химических превращениях частиц [174]. Накопление частиц на фотосинтетических поверхностях может приводить к изменению газообмена вследствие обструкции устьиц, что негативно сказывается на физиологических и клеточных функциях растений [175].

Экспериментальные исследования демонстрируют дозозависимый и видоспецифичный характер воздействия НЧ. На семенах петрушки (*Petroselinum crispum* L.) *in vitro* было показано, что наночастицы анатаза (TiO_2) стимулировали всхожесть, увеличивали длину корней и побегов, индекс силы роста и содержание хлорофилла в проростках. Авторы предполагают, что НЧ способны проникать через семенную оболочку и активировать метаболизм зародыша [176]. Исследование Маслоброда и соавторов [63] выявило стимулирующее и фунгицидное действие водных дисперсий НЧ серебра, меди, висмута и оксида цинка на семена пшеницы.

При воздействии наночастиц оксида цинка (ZnONPs) на рассаду томатов в диапазоне концентраций 10-200 ppm наблюдались разнонаправленные эффекты. Стимуляция синтеза хлорофилла отмечена при 10 и 50 ppm, тогда как более высокие концентрации (100 и 200 ppm) вызывали его снижение. Параметры роста (длина побегов и корней, сырая и сухая биомасса, площадь листьев) значительно угнетались под действием высоких доз ZnONPs [74]. Транслокация металлических НЧ в ткани высших растений и их последующая аккумуляция приводят к значительным физико-химическим сдвигам и оказывают влияние на процесс фотосинтеза [177–179].

Видоспецифические особенности накопления наночастиц меди были продемонстрированы на примере салата и люцерны, выращенных в условиях гидропоники. Наночастицы меди уменьшали длину корней в обоих видах растений, а также снижали

содержание фосфора и железа в листьях салата, тогда как в листьях люцерны, напротив, увеличивали содержание серы, фосфора и меди [67].

У огурца (*Cucumis sativus*), выращенного на гидропонике, аккумуляция CuNPs (10-30 нм) в корнях была значительно выше, чем в побегах. Воздействие частиц приводило к дозозависимому снижению содержания фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a* и *b*), появлению неблагоприятных фенотипических изменений и уменьшению биомассы [180]. Подобное влияние на пигментный аппарат было продемонстрировано для пшеницы показано, что биогенные CuNPs в зависимости от концентрации могут как стимулировать, так и подавлять синтез хлорофилла [181].

На доступность наночастиц для растений оказывают влияние также различные условия внесения, вид растения, стадия роста, а также физико-химические параметры частиц [49,182]. Ключевую роль играет размер частиц и их склонность к агрегации в почвенной среде, что может существенно ограничивать поглощение меди корневой системой [120,122,183]. Аккумуляция меди в тканях корня и минимальная транслокация в надземные части отмечена для сахарного тростника, выращиваемого в течение одного года в почве с добавлением 20, 40 и 60 мг/кг Kocide 3000 (фунгицид на основе меди), наночастиц металлической меди, микроразмерных CuO и CuCl₂ [184].

Hong и соавторы [120] выявили, что листовое опрыскивание определенным количеством микро- и макроэлементов повышает эффективность фунгицидов и удобрений, смягчая негативные эффекты по сравнению с традиционным почвенно-корневым внесением. López-Vargas и соавторы [68] также сообщили о положительных результатах листовой подкормки CuNP. Использование растворов наночастиц в концентрациях 50, 125, 250, 500 мг/л увеличивало твердость плодов томата по сравнению с контролем, тем самым продлевая срок хранения. Аналогичным образом, Nekoukhou и соавторы [185] наблюдали положительное влияние CuNP на биомассу *Dracopcephalum moldavica* L., проявляющееся в увеличении содержания фотосинтетических пигментов и выхода эфирного масла.

Исследование, имитирующее применение нано-CuO в качестве нанопестицидов, позволило выявить, что гидрофильность и шероховатость поверхности листьев играют важную роль в удержании нано-CuO. Продемонстрированы различия в накоплении наночастиц оксида меди в растениях, наибольшее количество обнаружено на поверхности листьев салата (*Lactuca sativa*), затем следует зеленая капуста (*Brassica oleracea*, var. *Acephala*), а затем *Brassica oleracea*, var. *Acephala Lacinato*. Гидрофильные и гладкие листья салата после ополаскивания удерживали минимальное количество частиц, в то время как листья капусты сохраняли значительное их количество даже после трех циклов промывки. Полученные данные свидетельствуют, что, несмотря на частичное удаление наночастиц с

поверхности, определенная доля нано-CuO способна прочно сорбироваться и поглощаться листовыми тканями, что создает потенциальные риски для здоровья потребителей [131].

Исследования демонстрируют, что низкие концентрации AgNPs часто оказывают стимулирующее действие, в то время как высокие концентрации обладают – фитотоксическое действие [38,186–188]. Обработка пшеницы наночастицами оксида меди (CuONPs) не вызвала токсичности, напротив, стимулировала ее рост. Наилучшие результаты по увеличению биомассы, длины корней и побегов, а также содержания фотосинтетических пигментов наблюдались при низких концентрациях [189].

Стимулирующие эффекты AgNPs проявлялись в улучшении показателей прорастания и роста у бобовых, в частности, предпосевная обработка семян фасоли совместно с применением бактериального препарата Нитрагина (содержащим *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*) повышала потенциал прорастания и скорость роста, активируя механизмы стресс-толерантности [186]. Аналогичный стимулирующий эффект малых концентраций отмечен на проростках фасоли и кукурузы [38]. Увеличение длины корней и побегов *Phaseolus vulgaris* и *Zea mays* зафиксировано при применении растворов в концентрации AgNPs 20, 40, 60 ppm, в то время как при воздействии 80 и 100 ppm наблюдалось замедление роста [190]. Низкие дозы AgNPs также способны усиливать синтез хлорофилла и улучшать параметры флуоресценции [191], а в концентрации 1 мг/л - увеличивать биомассу репы (*Brassica rapa* ssp. *rapa* L.) [187].

Фитотоксическое действие AgNPs включает ингибирование роста, снижение биомассы и нарушение фотосинтеза. Так, укорочение побегов и корней у *Lolium multiflorum* под действием AgNPs было более выраженным под влиянием наночастиц, чем под влиянием ионов серебра (AgNO₃) [188]. Обработка проростков гороха (*Pisum sativum*) наночастицами оксида серебра (нано-Ag₂O) приводила к снижению содержания фотосинтетических пигментов и флуоресценции хлорофилла [192].

Химически синтезированные AgNPs вызывали у огурца окислительный стресс, подавление антиоксидантной активности и снижение содержания каротиноидов и глобулинов [193]. Концентрации AgNPs 5 и 10 мг/л угнетали рост, биомассу и содержание хлорофилла у репы [187].

В ряде исследований было отмечено, что на эффект AgNPs влияют условия воздействия и характеристики частиц [66,193,194]. При листовой обработке сои и риса накопление AgNPs в листьях было выше, чем при корневой экспозиции [194]. В гидропонных условиях AgNPs подавляли длину корней у салата, но не оказывали заметного влияния при внесении в почву [66].

Важную роль играет и метод синтеза: в отличие от химических, AgNPs, полученные «зеленым» синтезом, способствовали фотосинтезу у огурца [193]. Было отмечено, что химически синтезированные наночастицы серебра оказывают токсическое действие на растения огурца, проявляющееся в чрезмерной продукции активных форм кислорода, снижении антиоксидантной активности и снижении содержания каротиноидов и глобулинов. Напротив, применение зеленых синтезированных AgNP способствовало фотосинтезу [193].

Yin и соавторы [65] в своем исследовании прорастания семян одиннадцати видов водно-болотных растений, обработанных AgNP, обнаружили улучшение прорастания семян только у одного вида растений (*E. fistulosum*) и отсутствие эффекта для других семян. Mazumdar и соавторы [195] описали разрушение клеточной стенки и повреждение вакуолей корневых клеток под воздействием высоких концентраций 25 нм серебряных НЧ.

Обработка сеянцев *Pisum sativum* нано-Ag₂O значительно снизила их рост, содержание фотосинтетических пигментов и флуоресценцию хлорофилла [192]. AgNP оказали токсическое действие на удлинение корней кукурузы, в то же время AgNP положительно повлияли на рост проростков арбуза и цуккини. При этом, только у цуккини обработка наночастицами серебра значительно повлияла на среднее время прорастания. При концентрациях 1,5 и 2,5 мг/мл прорастание семян происходило значительно позже по сравнению с контрольной группой [196].

В экспериментах в теплице зрелые растения томата (*Lycopersicon esculentum*) показали признаки фитотоксичности из-за AgNP, демонстрируя низкое содержание хлорофилла, более высокую активность супероксиддисмутазы и более низкую плодоношение [197]. Потенциал применения AgNPs в сельском хозяйстве связан с их фунгицидными свойствами, демонстрирующими перспективу использования в качестве нанофунгицидов [37,198]. Однако, при оценке влияния наночастиц серебра и меди на систему пшеница - *Pseudocercospora herpotrichoides*, отмечено, что наночастицы серебра и меди не влияли на рост и развитие мицелия патогена [161].

Поглощение и транслокация AuNPs растениями демонстрируют зависимость от их физико-химических характеристик и биологических особенностей растений. Растения способны поглощать растворимые формы золота, однако в восстановительной среде происходит их осаждение на клеточных поверхностях, что может ингибировать проницаемость мембран [199].

Исследования подтверждают биодоступность AuNPs с различными размерами и поверхностными покрытиями для таких видов, как пшеница и табак в условиях

гидропоники [200]. На примере озимого ячменя показана зависимость длины корней и скорости прорастания семян от размера и концентрации AuNPs [201].

Влияние AuNPs на рост и продуктивность растений может быть значительным. Установлено, что AuNPs размером 24 нм в определенной концентрации способны повышать общий урожай семян *Arabidopsis thaliana* в 3 раза по сравнению с контролем [202]. Обработка растений наночастицами золота повысила их резистентность к нематоды *Meloidogyne incognita*, в то время как растения контрольной группы продемонстрировали высокую восприимчивость к заражению. При этом наночастицы золота наименьшего размера увеличили всхожесть семян и длину побегов томатов на 21,67%, показав высокую эффективность и стимуляцию роста [203].

Полевые эксперименты с *Brassica juncea* показали, что листовая обработка AuNPs положительно влияет на ключевые агрономические параметры: высоту растения, диаметр стебля, количество ветвей, стручков и семян [39]. Локализация и транспорт AuNPs в растениях варьируются в зависимости от вида растения, заряда частиц и способа внесения [204,205]. Так, наночастицы золота (6-10 нм) были аккумулярованы в побегах *Oryza sativa*, но не накопились в побегах *Raphanus raphanistrum* и *Cucurbita pepo*. Выявлено также, что положительно заряженные AuNPs легче усваиваются корнями растений, отрицательно заряженные AuNPs наиболее эффективно переносятся из корней в побеги растений (включая стебли и листья) [204]. При этом ионные формы золота транспортируются из корней в листья активнее, чем наночастицы [206].

Были также продемонстрированы различия в накопления наночастиц золота в растениях пшеницы в зависимости от покрытия (цитрат или ПВП) при проведении опрыскивания. Отмечается менее эффективная транслокация наночастиц AuNPs, покрытых PVP по сравнению с наночастицами, покрытыми цитратом. Предполагается, что механизм поглощения AuNPs (ПВП), частично происходит за счет разрушения и диффузии наночастиц через слой кутикулы, а также, через устьица. Независимо от покрытия и размера, 5-15% AuNPs диаметром <50 нм, нанесенных на листовую поверхность, выделялись в ризосферную почву, при этом основная их часть аккумуляровалась в молодых побегах и корнях [207].

Было показано, что AuNPs способны взаимодействовать с хлорофиллом и влиять на работу фотосинтетической системы. У *Nardostachys jatamansi* наблюдалось увеличение содержания хлорофилла *a* и *b*, каротиноидов и общего хлорофилла [49]. Обработка пшеницы AuNPs приводила к увеличению содержания хлорофилла при концентрации 10 мг/л, тогда как более высокие концентрации вызывали его снижение [50]. Обработка семян

кукурузы AuNPs в концентрациях до 15 мкг/л улучшала физиологические параметры проростков, включая увеличение количества фотосинтетических пигментов [208].

Исследования подтверждают потенциальные экологические риски, связанные со способностью AuNPs к миграции в трофических цепях. AuNPs, покрытые таннатом или цитратом (диаметром 10, 30 и 50 нм), накапливались в растениях табака, но не в пшенице [209]. На примере табака было показано, что мелкие AuNPs (3,5 нм) способны проникать через корневую систему и оказывать токсическое действие при длительной экспозиции [210]. Исследования, проведенные с использованием табака (*Nicotiana tabacum* L. cv Xanthi) и табачного червя (*Manduca sexta*), подтвердили возможность транслокации AuNPs с одного трофического уровня на другой с признаками биомагнификации [211].

1.5.3. Влияние наночастиц на животных и здоровье человека

Активное внедрение наноматериалов в различные сферы промышленности и потребительские товары делает необходимым всестороннюю оценку их потенциального воздействия на живые организмы. Влияние наночастиц на здоровье человека и животных определяется сложным рядом факторов, таких как концентрация, путь и продолжительность воздействия. Существенное значение также имеют физико-химические параметры самих наночастиц: форма, размер, структура, заряд, химический состав и растворимость. Основными путями поступления наночастиц в организм человека и животных являются пероральный (с пищей и водой), ингаляционный и через кожу. Пероральный путь, в частности, приобретает особую значимость в контексте возможного поступления наноматериалов в пищевую цепь. Например, растения, аккумулирующие наночастицы металлов (как при целенаправленном внесении, так и в результате случайного загрязнения), могут служить источником их проникновения в организм человека при употреблении в пищу [212–214].

Ингаляционное воздействие наночастиц связывают с развитием различных респираторных заболеваний. Имеются данные по странам Азии об использовании в домашних условиях в сельских регионах необработанного твердого топлива для приготовления пищи. Так, средняя концентрация выбросов мелких частиц в этих условиях составляет 3-1070 мкг/м³ для сельской кухни, тогда как для городской этот показатель значительно ниже - 6-20 мкг/м³ [215].

Еще одним распространенным источником поступления наночастиц в организм является курение сигарет. Известно, что при выкуривании одной сигареты выделяется около $8,8 \times 10^9$ наночастиц. Экспериментально доказано, что более длительная затяжка и высокая концентрация смол напрямую способствуют увеличению количества образующихся частиц [216].

Исследования на мышах выявили корреляцию между накоплением серебра в головном мозге и снижением когнитивных функций, в частности долговременной контекстуальной памяти. Данный эффект наблюдался после 180 дней перорального приема коммерчески доступной биологически-активной добавки, содержащей наночастицы серебра (34 нм) в дозировке 50 мкг/сутки на животное [217].

При тестировании субхронической токсической реакции на пищевую добавку на основе наночастиц диоксида титана (E171) было установлено, что наночастицы диоксида титана накапливались в тканях толстой кишки крыс, вызывая снижение антиоксидантной защиты, и подавляя функции иммунной системы, что выражалось в снижении уровня иммунных маркеров [218].

В обзоре [219] суммированы данные о токсикологическом действии наночастиц золота в условиях *in vivo* и *in vitro*. Отмечено, что после попадания в системный кровоток наночастицы подвергаются метаболизму и, в зависимости от своих физико-химических свойств и влияния различных факторов, могут либо выводиться из организма, либо накапливаться в органах [219]. При исследовании влияния наночастиц серебра на когнитивные функции мышей было установлено, что после 4 месяцев эксперимента содержание серебра в головном мозге животных было выше, чем после 2 месяцев [220].

Изучение эффекта длительного перорального применения немодифицированных наночастиц серебра и наночастиц, функционализированных биомассой *Spirulina platensis*, на крысах показало, что оба типа частиц способны накапливаться в головном мозге, селезенке, печени и почках. При этом биофункционализированные частицы демонстрировали большее сродство к мозгу и селезенке, а немодифицированные - к печени и почкам. Интересно, что только функционализированные наночастицы накапливались в яичниках. Оба типа исследуемых наночастиц серебра проникали через гематоэнцефалический барьер в головной мозг, в то время как их выведение в период клиренса было достаточно низким [221].

Recordati и соавторами [222] было изучено распределение и эффекты цитратных наночастиц серебра и ацетата серебра в тканях самцов мышей *in vivo*. Наибольшее содержание серебра была обнаружено в головном мозге, за которым следовали яички, печень и селезенка; значительно более низкие концентрации регистрировались в тонком кишечнике и почках [222]. Показано, что наночастицы золота размером 10, 30 и 60 нм вызывают дисбаланс окислительного статуса клеток крыс, что сопровождается повреждением генетических, липидных и белковых структур. Золото обнаруживалось в кишечнике, почках, печени, селезенке, фекалиях и моче. Авторы пришли к выводу, что

наночастицы наибольшего диаметра выводятся преимущественно через селезенку, а наименьшего - через кишечник [223].

Медь является важным минералом для здоровья человека и в то же время может быть токсичной, в зависимости от дозы. Она играет важную роль в поддержании здоровья костей, функции иммунной системы, а ее дисбаланс связывают с повышенной частотой инфекций, сердечно-сосудистым риском и нарушениями метаболизма холестерина [224]. Воздействие наночастиц меди также может оказывать негативное влияние на организм. Doudi и соавторы наблюдали токсический эффект сферических наночастиц CuO (10-15 нм), который проявлялся в виде гистопатологических изменений в тканях печени и легких у крыс [225].

1.6. Методы детектирования наночастиц в биологических образцах

Оценка токсического воздействия наночастиц на живые организмы сопряжена с необходимостью определения их содержания в биологических образцах. Существуют два основных подхода: по количеству химического элемента (из которого изготовлены НЧ) или прямой подсчет количества НЧ. Сложность проведения анализа заключается в чрезвычайно низких, следовых количествах наночастиц в тканях, что сокращает список доступных чувствительных методов их определения.

Для элементного анализа применяются высокочувствительные методы, такие как оптико-эмиссионная спектрометрия и масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-ОЭС/МС), атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС), а также нейтронно-активационный анализ (НАА). Для непосредственного изучения наночастиц, их визуализации, подсчета и анализа размеров используются методы электронной микроскопии.

Сканирующая (СЭМ) и просвечивающая (ПЭМ) электронная микроскопия являются основными методами прямого визуального анализа наночастиц. Их ключевое назначение - определение размеров, формы, агрегации и дисперсии наноматериалов. При оснащении дополнительными детекторами оба метода способны предоставлять информацию о качественном элементном составе образца, при этом количественный анализ сопряжен со значительными трудностями [226,227].

Оптико-эмиссионная спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой - высокочувствительный аналитический метод, позволяющий определять широкий спектр элементов с низкими пределами обнаружения (до 10^{-9} - 10^{-7} % мас.). Принцип работы основан на возбуждении атомов пробы в высокотемпературной аргоновой плазме (температура до 10000 °C). Количественный анализ осуществляется путем измерения интенсивности излучения характерного для каждого элемента. К ключевым

преимуществам метода относятся скорость анализа, хорошую воспроизводимость, простота калибровки. Основные ограничения связаны с матричными эффектами и интерференциями, а также высокой стоимостью оборудования и эксплуатации [227–229].

Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой представляет собой один из наиболее динамично развивающихся и востребованных методов современной аналитической химии. Его ключевое преимущество - способность к быстрому, сверхчувствительному и высокоточному многоэлементному и изотопному анализу на следовом уровне. Для большинства элементов предел обнаружения составляет от 10^{-9} - 10^{-12} г/г (ppt-ppb). Проблемой использования данного метода для определения ряда элементов являются спектральные интерференции, возникающие из-за таких причин как наложения масс изотопов других элементов, дважды заряженных ионов или полиатомных соединений. Достижение исключительной чувствительности, точности и воспроизводимости метода напрямую зависит от разработки эффективных способов математической коррекции спектров и оптимизации пробоподготовки для устранения мешающих компонентов [227,230].

Атомно-абсорбционная спектрометрия - классический аналитический метод, предназначенный для количественного определения химических элементов, основанный на поглощении электромагнитного излучения определенной длины волны атомом в основном состоянии с переходом в возбужденное. Принцип действия заключается в измерении степени ослабления излучения от источника, что прямо коррелирует с концентрацией определяемого элемента в пробе. Ключевым этапом анализа является атомизация пробы, для реализации которой применяются различные техники: пламенная, электротермическая, генерация гидридов и метод «холодного пара». Основными преимуществами ААС считаются относительная простота интерпретации спектров, доступная стоимость анализа, быстрота и воспроизводимость измерений. Ограничениями метода являются сравнительно невысокая чувствительность и селективность при анализе сложных матриц, а также зависимость от наличия специализированных ламп для каждого элемента. Чувствительность метода варьируется в широких пределах (от 0,001 до 100 мкг/л) и зависит от определяемого элемента, состава матрицы, а также типа прибора [227].

Нейтронно-активационный анализ - это высокочувствительный и селективный ядерно-физический метод элементного анализа, основанный на регистрации излучения радиоактивных изотопов, образующихся при облучении образца потоком нейтронов. Его ключевыми преимуществами являются высокая точность, возможность неразрушающего и многокомпонентного анализа без сложной пробоподготовки, а также минимальное влияние матрицы образца. Метод обладает существенными практическими ограничениями,

требующими доступа к мощному источнику нейтронов (ядерному реактору), что обуславливает длительность процедуры облучения и обработки результатов, а также неизбежно связан с работой с радиоактивными материалами. Метод НАА по своим аналитическим возможностям сопоставим с таким высокоточным методом, как ИСП-МС. [227,231]. Метод протон-индуцированной гамма-эмиссии (PIGE) относится также к ядерно-физическим методам анализа, при котором образец облучается пучком протонов высокой энергии, вызывая ядерные реакции с испусканием характерного гамма-излучения. Метод часто сочетают с рентгеновской эмиссией, индуцированной протонами (PIXE), что позволяет проводить полный элементный анализ образца [232].

1.7. Выводы по первой главе

1. Объем производства потребительских товаров, содержащих металлические наночастицы, а также масштабы их применения в различных отраслях промышленности ежегодно возрастают. Это способствует поступлению наноразмерных частиц в окружающую среду, атмосферу, водные объекты, а также к их накоплению в почве и донных отложениях.

2. Литературные данные свидетельствуют как о положительном, так и об отрицательном воздействии наночастиц на микроорганизмы, растения, животных и здоровье человека. Исследования в данной области представляют значительный интерес как с точки зрения потенциальной пользы от применения НЧ, так и для оценки сопутствующих экотоксикологических рисков для системы почва-почвенная микробиота-растения-человек.

3. Сведения о влиянии различных типов наночастиц на растения противоречивы и зависят от множества факторов, включая физико-химические характеристики НЧ, способ и условия воздействия, параметры эксперимента, а также вид растения. В связи с этим существует необходимость в целенаправленном изучении влияния способа внесения и различных концентраций металлических НЧ на конкретные виды растений.

4. Использование наночастиц в сельском хозяйстве открывает новые возможности для увеличения урожайности, усиления фотосинтеза и улучшения качества растительной продукции. Однако этот потенциал сопряжен с рисками, связанными с накоплением и переносом наночастиц в растениях.

5. Установлена способность металлических наночастиц к миграции и биологической аккумуляции внутри трофических цепей, что создает потенциальные риски для консументов высших порядков.

6. Многообразие источников поступления металлических наночастиц в компоненты окружающей среды обуславливает необходимость комплексного изучения их взаимодействия в системе «почва - микробиота - растение - растительная продукция».

7. Анализ научных публикаций по теме данного исследования позволил сформулировать важную научную проблему, которая заключается в недостаточной научной обоснованности механизмов взаимодействия, аккумуляции и транслокации металлических наночастиц в системе «почва–почвенная микробиота–растения», а также в отсутствии комплексной оценки их воздействия на физиолого-биохимические параметры растений, функциональную активность почвенной микробиоты и риски трофического переноса к человеку.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторные и полевые эксперименты с растительными объектами были проведены в Секторе нейтронного активационного анализа Лаборатории нейтронной физики им. И.М. Франка Объединенного института ядерных исследований (ОИЯИ) в период с 2021 по 2025 г. совместно с Институтом Микробиологии и Биотехнологии Технического университета (г. Кишинев, Молдова).

2.1. Материалы

2.1.1. Растительные тест-объекты

Различные виды растений находят широкое применение: в свежем виде - в пищевой промышленности, в сушеном - при производстве специй, приправ, чаев и настоев, а в переработанном - в медицинских и оздоровительных целях.

Мята колосистая (*Mentha spicata* L.) - многолетнее травянистое растение рода Мята (*Mentha*), семейства Яснотковые (*Lamiaceae*), была выбрана в качестве объекта исследования в связи с широким ареалом культивирования и активным использованием в пищевой, медицинской и косметической отраслях. Эфирное масло мяты колосистой применяется для ароматизации мыла, шампуней, кремов, зубных паст, а также в медицине, косметологии и пищевой промышленности. Надземные части растения используются в качестве ароматизатора для напитков, кондитерских изделий, жевательной резинки, мороженого, салатов, супов и десертов. Исследования экстрактов и эфирных масел подтверждают их антиоксидантное, противоопухолевое, противопаразитарное, противомикробное и противодиабетическое действие. Листья, стебли и цветки в свежем и сушеном виде традиционно используются для приготовления чаев и настоев, применяемых в качестве тонизирующего средства при усталости, головной и зубной боли, сахарном диабете, а также в качестве мочегонного средства и при нарушениях функции кишечника [233–235]. Для эксперимента были использованы черенки мяты колосистой, предварительно полученные от растений, выращенных из семян, приобретенных в компании «Грин Агро» (Пенза, Россия).

Петрушка кудрявая (*Petroselinum crispum* Mill.) - одно- или двулетнее растение семейства Зонтичные (*Umbelliferae*). Листья и корни петрушки являются важными компонентами лекарственных средств, обладающих противовоспалительными свойствами, и применяются при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, почек, мочевыводящих путей, а также в терапии диабета. Петрушка широко используется в качестве приправы к салатам и гарнирам, а также употребляется в свежем виде. Также, она богата антиоксидантами, включая витамин С, флавоноид лютеолин, витамин А и фолиевую

кислоту, а также содержит эфирные масла в корнях и листьях [236,237]. Для проведения экспериментов семена петрушки кудрявой были приобретены в агрокомпании «Поиск».

Календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.) - травянистое растение рода Календула (*Calendula*) семейства Астровые (*Asteraceae*), является популярной декоративной культурой, а также известна своими лекарственными свойствами. Листья и цветки календулы обладают жаропонижающим, противовоспалительным, противосудорожным и противомикробным действием. Экстракты, настойки, бальзамы и мази на основе цветков *Calendula officinalis* применяются местно для заживления ран, а также для смягчения воспаленной и поврежденной кожи [238,239]. Календула лекарственная была выращена из семян, приобретенных в компании «Агро Исеть».

Черника обыкновенная (*Vaccinium myrtillus* L.) - многолетний кустарник семейства Вересковые (*Ericaceae*), происходящий из Северной Европы и Северной Америки [240]. Ягоды черники ценятся во многих странах за приятный вкус и часто используются для приготовления джемов, варенья, пирогов, соков и алкогольных напитков. Среди ягод черника демонстрирует одни из наиболее высоких антиоксидантных свойств. Экстракты плодов и листьев применяются при нарушениях зрения, повышенном уровне сахара в крови и ряде сердечно-сосудистых заболеваний [241–244]. Для полевого эксперимента использованы взрослые дикорастущие кустарники черники.

2.1.2. Растворы наночастиц металлов

Растворы наночастиц меди, золота и серебра, покрытые поливинилпирролидоном (ПВП) были приобретены в компании М9 (Тольятти). ПВП, действуя как стабилизатор, предотвращает агрегацию наночастиц и обеспечивает их стабильность в водном растворе. Исходные растворы имели концентрацию 200 мг/л. Необходимые для проведения экспериментов концентрации 1, 5, 10, 50, 100 мг/л были получены путем разбавления исходных растворов деионизированной водой, подготовленной с помощью системы очистки воды Adrona (электропроводность воды 1-го класса при 25°C составляет 0,055 мкСм/см).

2.1.3. Почвенный грунт

В эксперименте с растениями *Petroselinum crispum* Mill. был использован грунт марки Terra Vita, приобретенный в компании «Нева-Торф». Грунт содержит в своем составе верховой торф, биогумус, аллювиальный песок, агроперлит, известняковую муку, Р, К, Са, Mg, Fe и микроэлементы, pH почвы 6–6,5.

Для экспериментов с *Mentha spicata* L. и *Calendula officinalis* L. был выбран универсальный питательный грунт С-2 (ООО «ВЕЛТОРФ»), основой которого является смесь торфа различной степени разложения. В состав входит также нитроаммофоска

(азофоска) азотно-кислотного разложения марки 1:1:1, известняковая мука. Кислотность водной суспензии 5,5-7,0. Согласно информации производителя, содержание азота (NH_4+NO_3) не менее 100-180 мг/л, фосфора (P_2O_5) 100-180 мг/л, калия (K_2O) 130-260 мг/л.

2.2. Схема лабораторных экспериментов

Эксперименты проводили на растениях петрушки, мяты и календулы в лабораторных условиях при температуре 20–21 °С и относительной влажности воздуха 20–25%. Воздействию наночастиц подвергали взрослые, хорошо развитые растения, предварительно выращенные в горшках с почвенным грунтом. Растения обрабатывали один раз в 48 часов (в течение 10 или 28 дней в зависимости от объектов эксперимента) водными суспензиями AuNPs, AgNPs и CuNPs в концентрациях 1, 5, 10, 50 и 100 мг/л. Обработку проводили двумя способами: прикорневым орошением и опрыскиванием надземной части (рис.2.1).

Для распыления на листовую поверхность использовали полипропиленовый пульверизатор. Объем рабочих суспензий был подобран эмпирически: для опрыскивания - с целью предотвращения стекания капель с листовой поверхности, для прикорневого орошения - для исключения дренажа избыточного раствора через субстрат. В обоих случаях учитывалась потребность растений во влаге. Контрольную группу растений выращивали в тех же условиях без обработки наночастицами металлов. Для исключения контакта растворов наночастиц с почвой при листовой обработке, поверхность субстрата изолировали защитным покрытием.

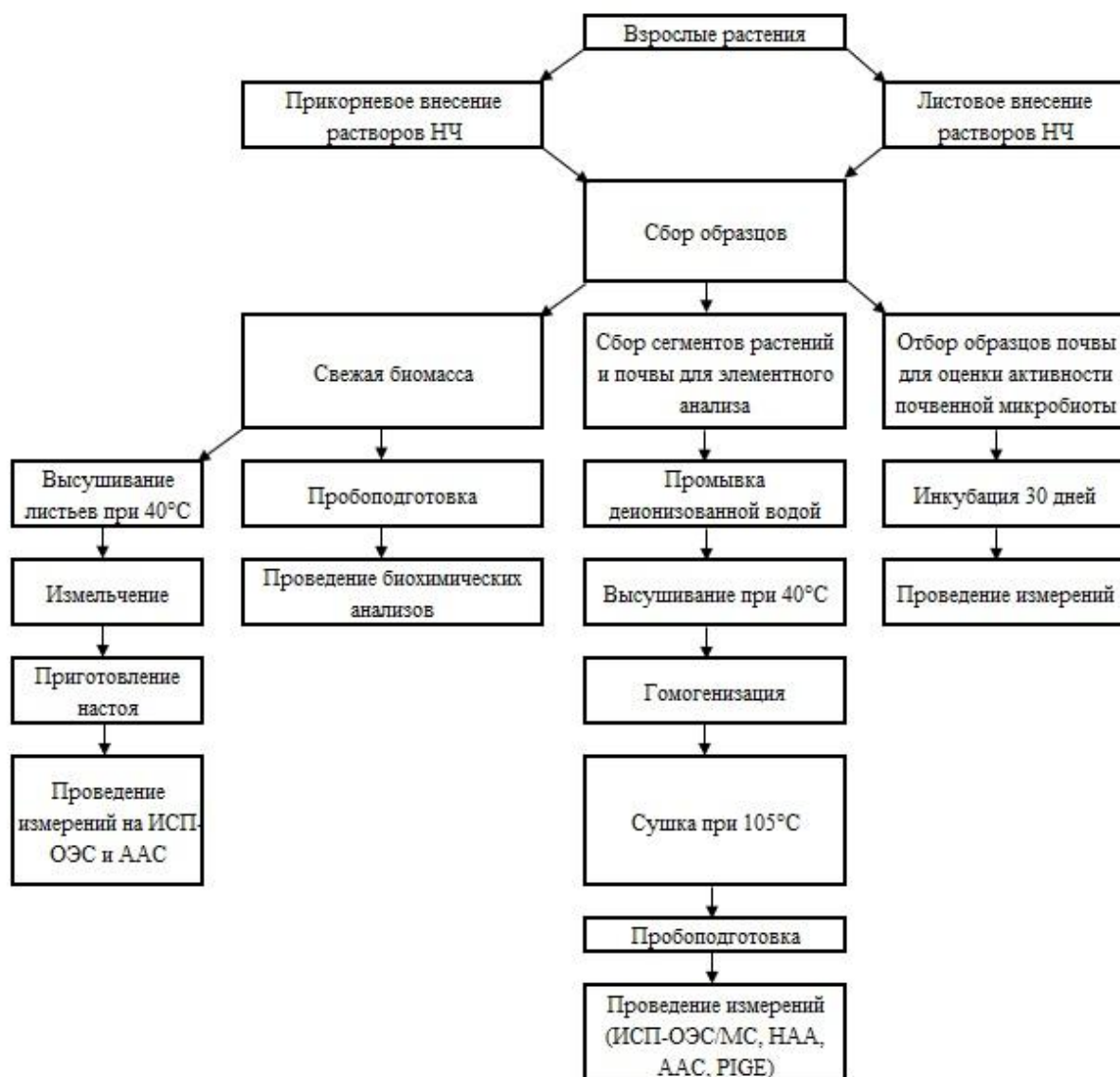


Рисунок 2.1. Схема проведения экспериментов

2.2.1. Петрушка кудрявая (*Petroselinum crispum* Mill.)

Петрушку выращивали в горшках объемом 500 мл, заполненных почвенным субстратом до объема 400 мл. В течение первых 60 дней после появления всходов растения поливали дистиллированной водой. Воздействие суспензиями наночастиц AuNPs, AgNPs, CuNPs проводили каждые 48 часов в течение 10 дней на взрослые, полностью сформировавшиеся растения. Объем рабочей суспензии, вносимой на одно растение, составлял 10 мл при корневом внесении и 2 мл при опрыскивании надземной части.

2.2.2. Мята колосистая (*Mentha spicata* L.)

Черенки мяты колосистой, отобранные с растений второго года вегетации, высаживали в горшки объемом 200 мл, заполненные почвенным субстратом. Эксперимент инициировали через две недели после появления побегов, когда растения достигали высоты

20 см. Объем рабочего раствора, вносимого одновременно на одно растение, составлял при корневом орошении 20 мл, а при опрыскивании листовой поверхности - 2 мл. Обработка проводилась каждые 48 часов в течение 28 дней.

2.2.3. Календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.)

Семена календулы высевали в горшки объемом 400 мл, заполненные почвенным субстратом. Растения выращивали до фазы начала бутонизации, на протяжении этого периода полив проводили дистиллированной водой. Спустя 60 дней с момента появления всходов, растения обрабатывали суспензиями наночастиц методами корневого внесения и опрыскивания листовой поверхности. Объем рабочей суспензии, вносимой на одно растение, составлял 30 мл при корневом внесении и 2 мл при листовой обработке. Обработка проводилась каждые 48 часов в течение 28 дней.

2.3. Схема полевых экспериментов

2.3.1. Черника обыкновенная (*Vaccinium myrtillus* L.)

Для проведения полевого эксперимента был выбран участок смешанного леса (Дубна, Россия). Растения черники в фазе цветения однократно поливали суспензиями наночастиц AgNPs и CuNPs в концентрациях 50, 100 и 200 мг/л. Каждую суспензию в объеме 500 мл вносили на экспериментальную площадку площадью 1 м², занятую растениями. Расстояние между смежными делянками составляло 2 м. Продолжительность эксперимента составила 60 дней - от фазы цветения до фазы плодоношения (рис.2.1). Значение pH водной вытяжки из почвы варьировало в диапазоне 5,0–6,0. На каждый вариант обработки (вид и концентрация наночастиц) использовали по три растения (повторности).

2.3.2. Мята колосистая (*Mentha spicata* L.)

Черенки мяты колосистой высаживали в полевых условиях на делянках площадью 1 м² с плотностью 3 шт/м². Через 14 дней после укоренения растения однократно обрабатывали методом прикорневого полива водными суспензиями наночастиц меди, серебра и золота в концентрациях 5, 50 и 100 мг/л. Объем рабочей суспензии, вносимой на каждую делянку, составлял 200 мл. Продолжительность эксперимента составила 28 дней. По его окончании проводили отбор растений и образцов ризосферной части почвы.

2.4. Приготовление травяного настоя

Травяной настой готовили из листьев *Mentha spicata* L. Условия экстракции для экспериментов (продолжительность, температура, соотношение «растительное сырье: вода») были выбраны в соответствии с рекомендациями производителей растительного

сырья (листья мяты сушеные измельченные). Для приготовления настоя навеску высушенных измельченных листьев массой 0,5 г заливали 10 мл деионизованной воды, предварительно нагретой до 80 °С. Полученную смесь настаивали под крышкой в течение 5 минут, после чего фильтровали через обеззоленный фильтр. Содержание меди в профильтрованных настоях определяли методом оптико-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-ОЭС), а золота и серебра - методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС).

2.5. Активность почвенных микроорганизмов

Микробную активность почвы оценивали путем измерения скорости выделения CO₂ (дыхание почвы). Перед анализом образцы почвы выдерживали в воздушно-сухом состоянии в течение 1 месяца. Для опыта отбирали пробы, полученные из ризосферы растений, обработанных прикорневым поливом суспензиями наночастиц (AuNPs, CuNPs, AgNPs) в концентрации 100 мг/л, а также контрольные образцы. Навеску почвы массой 25 г помещали в колбу Эрленмейера вместимостью 250 мл и увлажняли добавлением 9 мл дистиллированной воды. Колбы инкубировали в темноте в течение 30 дней при температуре 25 °С. Для каждой комбинации «вид наночастиц – вид растения», а также для контроля, эксперимент проводили в трехкратной повторности.

Выход CO₂ в каждой колбе измеряли с использованием методики закрытой динамической камеры с помощью инфракрасного газоанализатора Li-850 (LI-COR, Lincoln, США). Измерение скорости увеличения концентрации CO₂ в воздухе камеры, включало воздух в колбе, трубке и инфракрасном газоанализаторе. Полученные данные были пересчитаны в скорость эмиссии, выраженную в мкг C-CO₂ из 1 г почвы в час. Скорость выделения CO₂ была рассчитана по формуле (2.1):

$$R_s = 3600 \times \Delta CO_2 \times M_C \times P/P_i \times V/V_i \times T_i/T/W_s \quad (2.1)$$

где R_s — скорость выделения CO₂;

3600 — количество секунд в 1 ч;

ΔCO_2 — изменение концентрации CO₂ (микромоль CO₂ в 1 моле воздуха) в секунду в воздухе камеры;

M_C — 12,01 г (молярная масса C);

P — давление (кПа);

P_i — 101,325 кПа (стандартное давление);

V — объем воздуха (л) в камере;

V_i — 22,41 л (объем моля воздуха при 0 °С);

T_i — 273,15 К (стандартная температура);

T — температура (К);

W_s — масса (г) исследуемой почвы.

2.6. Методы исследований

Для определения содержания золота, серебра и меди в почвенных и растительных образцах были использованы несколько методов анализа:

1. оптико-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ИСП-ОЭС)
2. масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС)
3. атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС)
4. k_0 -нейтронный активационный анализ (k_0 -НАА)
5. спектроскопия испускания гамма-лучей, индуцированного частицами (PIGE - Particle Induced Gamma-ray Emission).

Для каждого из примененных методов был выполнен ряд этапов пробоподготовки. В таблице 2.1 представлены методы, использованные для определения золота, серебра и меди в почвах и растительных образцах для каждого эксперимента.

Таблица 2.2. Методы, используемые для определения содержания металлов в почвенных и растительных образцах

Тип НЧ	Способ внесения растворов НЧ	Растительный объект				
		<i>Petroselinum crispum</i> Mill.	<i>Calendula officinalis</i> L.	<i>Mentha spicata</i> L.	<i>Vaccinium myrtillus</i> L.	<i>Mentha spicata</i> L. (полевой)
CuNPs	Корневое	ИСП-ОЭС	ИСП-ОЭС	ИСП-ОЭС	ИСП-ОЭС	ИСП-ОЭС
	Листовое	ИСП-ОЭС	ИСП-ОЭС	ИСП-ОЭС	–	–
AuNPs	Корневое	ИСП-МС	PIGE	k_0 -НАА	–	ИСП-ОЭС
	Листовое	ААС	ААС	k_0 -НАА	–	–
AgNPs	Корневое	ААС	PIGE	ААС	PIGE	ИСП-ОЭС

Листовое	AAC	AAC	AAC	–	–
----------	-----	-----	-----	---	---

2.6.1. Пробоподготовка и проведение измерений методами атомно-абсорбционной спектроскопии, оптико-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой

По завершении экспериментов из каждого горшка отбирали почву, а растения разделяли на органы для последующего элементного и биохимического анализа. Разделение проводили по видам:

- Мята колосистая (*Mentha spicata* L.) - корни, стебли и листья.
- Петрушка кудрявая (*Petroselinum crispum* Mill.) - корни и листья.
- Календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.) - корни, стебли, листья и цветки.
- Черника обыкновенная (*Vaccinium myrtillus* L.) - корни, стебли, листья и ягоды.

Часть листьев растений сразу замораживали и хранили при –80 °С для последующих биохимических исследований. Остальные образцы растений и почву высушивали при 50 °С в течение 72 ч, гомогенизировали, а затем досушивали при 105 °С в течение 24 ч. Определение меди в образцах почвы, а также сегментах петрушки, мяты и календулы было проведено с использованием ИСП-ОЭС (ОИЯИ, Дубна, Россия). Для разложения растительных образцов навески 0,2 г высушенной растительной массы были помещены в тefлоновые сосуды и обработаны смесью кислот HNO₃ (Honeywell Fluka 69%, Sigma-Aldrich, Дармштадт, Германия) и H₂O₂ (Sigma-Aldrich 30%, Дармштадт, Германия) в соотношении 3:1. К навеске 0,2 г образца почв были добавлены HNO₃, H₂O₂, HF (Merck 40%, Дармштадт, Германия), объемом 5 мл, 2 мл, 1 мл соответственно. Минерализацию проб проводили в системе MARS 6 (CEM, Скоттсдейл, США), после чего образцы были количественно перенесены в мерные колбы (растительные - на 10 мл, почвенные - на 50 мл) и доведены до метки деионизованной водой.

2.6.2. Проведение измерений с помощью оптико-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой

Содержание меди в образцах определяли с помощью оптико-эмиссионного спектрометра высокого разрешения с индуктивно-связанной плазмой PlasmaQuant PQ 9000 Elite (Analytik Jena, Йена, Германия). В качестве плазмообразующего газа использовался аргон высокой чистоты. Измерения проводили в аксиальном режиме наблюдения плазмы. Использовали стандартные условия работы плазмы и кварцевую горелку. Мощность плазмы составляла 1200 Вт. Расходы газов были установлены следующим образом: плазмообразующий газ - 15,0 л/мин, вспомогательный газ - 0,05 л/мин, газ для распылителя

- 0,05 л/мин. Регистрацию аналитического сигнала проводили трижды. Время считывания сигнала для каждого измерения составляло 3 секунды. Контроль качества измерений обеспечивался анализом сертифицированных эталонных материалов INCT PVTЛ-6 (Polish Virginia Tobacco Leaves), NIST 1573a (Tomato Leaves), NIST 2709a (San Joaquin Soil Baseline Trace Element Concentrations). Погрешность определения составила менее 5%.

2.6.3. Проведение измерений с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой

Масс-спектрометр с индуктивно-связанной плазмой XSeries II (Thermo Scientific, США) был использован для определения золота в образцах петрушки, полученных после орошения растворами наночастиц AuNPs. Измерения концентрации золота в растительных и почвенных образцах были проведены в Институте проблем технологии микроэлектроники и особочистых материалов Российской академии наук (ИПТМ РАН, Россия) методом ИСП-МС, с использованием, погрешность определения 5%.

2.6.4. Проведение измерений с помощью атомно-абсорбционной спектрометрии

Атомно-абсорбционный спектрометр с электротермической атомизацией Thermo Scientific iCE 3000 (Thermo Fisher Scientific, США) был использован для определения содержания серебра и золота в растительных и почвенных образцах, полученных в случае экспериментов с растениями петрушки, мяты и календулы. Для построения калибровочной кривой использован стандарт Silver Standard for Atomic Absorption (AAS) 1000 мг/л Ag в 0,5M HNO₃. При проведении измерений были использованы кюветы типа ELC, температура пиролиза 450°C, температура атомизации 1100 °C, поток газа 0,2 л/мин. Также метод ААС был применен для определения содержания золота и серебра в составе травяных настоев, полученных из листьев мяты, обработанных наночастицами соответствующих металлов. Для количественного определения золота использовали калибровочные растворы, приготовленные из стандартного образца (Gold ICP standard в 7% HCl, 1000 мг/л). Контроль качества измерений обеспечивался анализом сертифицированных эталонных материалов NIST 1573a (Tomato Leaves), NIST 2711a (Montana II Soil). Погрешность определения менее 5%.

2.6.5. Проведение измерений с помощью k0-нейтронного активационного анализа

k0-нейтронно-активационный анализ (k0-НАА) был проведен на исследовательском реакторе Далат (Далат, Вьетнам). Подготовку проб проводили в соответствии со стандартной методикой: образцы были высушены и гомогенизированы до

тонкодисперсного порошка (размер частиц ~ 74 мкм), затем упакованы в полиэтиленовые пакеты.

Образцы облучали с золотым монитором (IRMM 530, Al-0,1% Au) для определения потока тепловых нейтронов. Контроль качества анализа осуществляли за счет облучения сертифицированных эталонных материалов NIST-2709a (San Joaquin Soil), NIST-2711a (Montana II Soil) и NIST-1570a (Spinach leaves).

Для идентификации долгоживущих изотопов облучение происходило в течение 10 и 15 часов на вращающейся стойке с потоком тепловых нейтронов $3,8 \cdot 10^{12} \text{ н} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ($\alpha = 0,071$, $f = 39,5$), для почвенных и растительных образцов, соответственно. Облученные образцы измеряли на германиевом детекторе GMX-30190 (ORTEC) с эффективностью 30% и энергетическим разрешением 2,1 кэВ при 1332,5 кэВ ^{60}Co . Гамма-спектры наведенной активности обрабатывали с использованием программы MAESTRO.

2.6.6. Проведение измерений с помощью спектроскопии испускания гамма-лучей, индуцированного частицами

Для определения содержания золота и серебра, почвенный и растительный материал измельчали в агатовой ступке, затем прессовали в форму таблеток диаметром 1 см и толщиной около 1 мм с помощью гидравлического пресса (Specac Ltd) при 4,5 т. Эксперименты проводили в специальной реакционной камере ионно-лучевого анализа (IBA) на 3 МВт Tandetron (IFIN-НН, Мэгуреле, Румыния) с использованием протонного пучка с энергией 3 МэВ, перпендикулярного держателю мишени в вакууме (диаметр пучка на мишени около 2 мм).

Экспериментальные условия: заряд пучка на мишени 10-50 мкКл, время счета 1000-5000 с, ток пучка 9-15 нА. Контроль качества измерений обеспечивали путем анализа сертифицированных стандартных образцов INCT PVTЛ-6 (Polish Virginia Tobacco Leaves), NIST 1573a (Tomato Leaves), NIST 2709a (San Joaquin Soil Baseline Trace Element Concentrations). Разница между сертифицированными и полученными значениями составила менее 5%.

2.6.7. Метод просвечивающей электронной микроскопии

Размер и форма наночастиц в растворах, полученных в компании М9 (Тольятти, Россия), были определены на просвечивающем электроном микроскопе Thermo Scientific Talos F200i (США).

2.6.8. Расчет коэффициентов транслокации и биоконцентрации металлов

Полученные данные о содержании золота, серебра и меди в сегментах петрушки, мяты, календулы и почвенных образцах были использованы для расчета факторов биоконцентрации и коэффициентов транслокации [245]. Фактор биоконцентрации (КБК)

был вычислен как отношение содержания элементов в сегменте растений к их содержанию в почве [245]:

$$\text{КБК} = C_{\text{к(ст, л, ц)}}/C_{\text{п}} \quad (2.2)$$

Коэффициент транслокации (КТ) был рассчитан как отношение содержания металла в стеблях к содержанию в корнях, в листьях по отношению к стеблям, листьях по отношению к корням, в цветах по отношению к листьям, стеблям и корням соответственно (2.3):

$$\text{КТ} = C_{\text{(ст, л, ц)}}/C_{\text{(к, ст, л)}}, \quad (2.3)$$

где $C_{\text{к}}$ – содержание металла в корнях, $C_{\text{ст}}$ – содержание в стеблях, $C_{\text{л}}$ – содержание в листьях, $C_{\text{ц}}$ – содержание в цветках, $C_{\text{п}}$ – содержание в почве.

При опрыскивании листовой поверхности коэффициент транслокации из надземной части к корневой системе был рассчитан как отношение (2.4):

$$\text{КТ} = C_{\text{(к, ст, л)}}/C_{\text{(ст, л, ц)}} \quad (2.4)$$

2.6.9. Расчет риска для здоровья человека

Оценочная суточная доза (ОСД, мг/кг массы тела в день) элементов рассчитывали по уравнению (5).

$$\text{ОСД} = (C_i * \text{IR} * \text{EF} * \text{ED})/(\text{AT} * \text{BW}), \quad (2.5)$$

где C_i — содержание металла в плодах, цветках мг/кг (в травяном отваре, мг/л);

IR — скорость потребления, кг/день (мл/день);

EF — частота воздействия, дней/год;

ED — продолжительность воздействия;

AT — среднее время воздействия, EF × ED);

BW — средняя масса тела, 70 кг.

Коэффициент опасности (КО) рассчитывали для качественной оценки неканцерогенного воздействия металла на человека при потреблении ягод (6):

$$\text{КО} = \text{ОСД}/\text{RfD} \quad (2.6)$$

где RfD — суточная пероральная референтная доза, мкг·кг/день [246–248].

В связи с отсутствием референтных токсикологических доз для наночастиц меди и золота, в расчетах использовали следующие значения: RfD для меди - 0,04 мг·кг/день [249]; для серебра - установленную RfD 0,005 мг·кг/день [250]; для наночастиц золота - расчетное значение 1,32 мкг·кг/день, полученное на основе данных о потреблении пищевой добавки E175 (золото) [251].

2.6.10. Проведение биохимических анализов

Определение биохимического состава биомассы наземных частей растений (полученных в лабораторных экспериментах), а именно содержания пигментов, фенолов, а также антиоксидантной активности осуществляли с помощью спектрофотометрических методов с применением спектрофотометра T60 Visible Spectrophotometer (PG Instruments Limited, Великобритания). Хлорофилл (Хл) и каротиноиды (Кар) экстрагировали полярными растворителями из измельченной биомассы листьев. Экстракцию проводили при комнатной температуре при встряхивании в течение 12 часов. Полученную суспензию центрифугировали в течение 7 минут при 4000 g.

Определение содержания хлорофилла и каротиноидов в биомассе растений

Экстракцию хлорофилла из биомассы листьев растений проводили с использованием 90% ацетона. Поглощение (Abs) экстракта регистрировали при трех разных длинах волн 470, 645 и 663 нм. Полученные значения использовали для расчета общего содержания хлорофилла. Измерения и расчеты были проведены согласно методикам [252,253].

Для извлечения каротина использовали 96% этанол. Для определения содержания β-каротина регистрировали поглощение спиртового экстракта при длине волны 450 нм. Содержание пигментов рассчитывали по формулам:

$$\text{Хл}(a) = (\text{Abs}663 \times 12,21) - (\text{Abs}645 \times 2,81) \quad (2.7)$$

$$\text{Хл}(b) = (\text{Abs}645 \times 20,13) - (\text{Abs}663 \times 5,03) \quad (2.8)$$

$$\text{Кар} = (1000 \times \text{Abs}470) - (\text{Хл}(a) \times 3,27) - (\text{Хл}(b) \times 104)/229 \quad (2.9)$$

Определение содержания пигментов в полевом эксперименте (*Mentha Spicata* L.)

Биохимический анализ проводили на свежем растительном материале, полученном в полевом эксперименте. Определение содержания фотосинтетических пигментов в листьях проводили спектрофотометрическим методом в этанольных экстрактах на спектрофотометре ПЭ-5400 (Россия) в трехкратной биологической и аналитической повторности. Оптическую плотность определяли при длинах волн 470, 649 и 665 нм. Расчет содержания пигментов проводили по формулам [252] в мг/мл, затем проводили пересчет мг/г сырой биомассы.

Определение антиоксидантной активности биомассы растений

Сначала к 500 мг сухого биологического материала добавляли 5 мл 55% раствора этилового спирта. Затем образцы мацерировали в течение 2 ч при непрерывном перемешивании. Экстракты отделяли от биологического материала центрифугированием и

фильтрацией. Полученные экстракты хранили при температуре 0°C. Радикал ABTS (2,2'-азино-бис (3-этилбензотиазолин-6-сульфоная кислота) был приготовлен путем смешивания ABTS (концентрация 7 мМ) с 2,45 мМ персульфатом калия (K₂S₂O₈) (образование радикалов в темноте длится 12–16 часов). Реакционная смесь состояла из 2,7 мл рабочего раствора ABTS с оптической плотностью 0,700 ± 0,02 и 0,3 мл водно-этанольного экстракта из биологического материала. Через 6 минут регистрировали оптическую плотность при 734 нм [253,254]. Антиоксидантную активность выражали в процентах ингибирования по формуле:

$$\% \text{ Ингибирования} = 100 - (\text{Abs}_{\text{Обр}} * 100 / \text{Abs}_{\text{ABTS}}) \quad (2.10)$$

где Abs_{Обр} - поглощение образца после времени реакции, а Abs_{ABTS} - поглощение рабочего раствора ABTS.

Радикал DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) был приготовлен для образования раствора 60 мкМ DPPH в 96% этаноле. Реакционная смесь содержала 2,7 мл раствора DPPH и 0,3 мл гидро-этанольного экстракта из биологического материала. Образцы инкубировали при комнатной температуре в условиях отсутствия света в течение 30 мин, а затем поглощение регистрировали при 517 нм [253,255].. Антиоксидантную активность оценивали по процентному ингибированию DPPH:

$$\% \text{ Ингибирования} = 100 - (\text{Abs}_{\text{Обр}} * 100 / \text{Abs}_{\text{DPPH}}) \quad (2.11)$$

где Abs_{Обр} - поглощение образца после времени реакции, а Abs_{DPPH} - поглощение раствора DPPH.

Определение содержания аскорбиновой кислоты и глутатиона в полевом эксперименте *Mentha Spicata* L.

Определение содержания аскорбиновой кислоты проводили в экстрактах растительного материала в растворе метафосфорной кислоты с 2,6 дихлорфенолиндифенолом титриметрическим методом. Определение содержания глутатиона – в присутствии крахмала и KI титрованием раствором KIO₃. Содержание аскорбиновой кислоты (АК) и глутатиона (GSH) рассчитывали по следующим формулам и выражали в мг/г свежей массы (Уравнения 2.12, 2.13):

$$c(\text{АК}) = \frac{a * K * 0,088 * M}{m * n} \quad (2.12)$$

$$c(\text{GSH}) = \frac{(b - a) * K * 0,307 * M}{m * n} \quad (2.13)$$

где:

$c(\text{АК})$, $c(\text{GSH})$ – содержание аскорбиновой кислоты и глутатиона в растительных тканях, мг/г свежей массы;

a – объем 2,6-дихлорфенолиндифенола, использованного для титрования, мл;
 b – объем KIO_3 , использованный для титрования, мл;
 K – Соотношение KIO_3 и 2,6-дихлорфенолиндифенола, используемое для титрования стандартного раствора АК (в данном эксперименте $K=1,5\pm0,02$);
 M – общий объем экстракта, мл;
 m – объем аликвоты, мл;
 n – масса образца, г;
0,088 – объем АК (мл), эквивалентный 1 мл 0,001 Н раствора 2,6-дихлорфенолиндифенола;
0,307 – объем GHS (мл), эквивалентный 1 мл 0,001 Н раствора KIO_3 .

Определение содержания фенольных соединений

Для определения содержания фенолов был использован реактив Folin–Ciocalteu (SigmaAldrich, Darmstadt, Germany) при разведении 1:9. Рабочая смесь состояла из 1,5 мл реактив Folin–Ciocalteu, 1,2 мл 7,5% раствора бикарбоната натрия и 0,3 мл образца. После инкубационного периода в течение 5 мин при 50°C измеряли поглощение при 760 нм. В качестве стандарта использовали раствор галловой кислоты, а содержание фенолов выражали в мг галловой кислоты/100 г биомассы растения [256].

Определение количества малондиальдегида в биомассе растений

Уровень перекисного окисления липидов определяли по содержанию малонового диальдегида (МДА) с использованием анализа тиобарбитуровой кислоты (ТБК) в соответствии с методом, предложенным Heath R.L. и Packer L. [257]. Для этого 150 мг растительной биомассы измельчали и добавляли 3 мл раствора реагента, содержащего 0,25% тиобарбитуровой кислоты, приготовленной в 10% трихлоруксусной кислоте. Полученный раствор нагревали на водяной бане при 95°C в течение 30 мин. После охлаждения и центрифугирования образцов регистрировали поглощение при длинах волн 532 нм и 600 нм. Концентрация МДА рассчитывали с использованием коэффициента экстинкции [253].

2.6.11. Статистическая обработка экспериментальных данных

Данные были статистически проанализированы путем расчета средних значений, стандартных отклонений и доверительных интервалов с использованием t-критерия Стьюдента. Данные считались статистически значимыми при значении $p \leq 0,05$. Для статистического анализа использовались Microsoft Excel 2021 и Statistica 10.

2.7. Выводы к главе 2

1. Для определения содержания золота, серебра и меди в образцах были выбраны методы ИСП-ОЭС/МС, ААС, PIGE и $k\theta$ -НАА, которые обладают высокой чувствительностью, что позволяло обеспечить точность измерений. Качество аналитических измерений контролировали с использованием сертифицированных стандартных образцов, а также анализом холостых проб для подтверждения прецизионности методики.

2. Применение метода просвечивающей электронной микроскопии позволило визуализировать наночастицы металлов в рабочих растворах, определить их размер и морфологию с высоким пространственным разрешением.

3. Спектрофотометрические методы, используемые для определения количественного содержания фотосинтетических пигментов, малонового диальдегида, фенольных соединений, а также антиоксидантной активности в биомассе контрольных и опытных растений, позволили провести высокочувствительный и воспроизводимый анализ.

4. Использование общепринятых методик позволило выполнить расчеты для количественной оценки: влияния растворов наночастиц на активность почвенных микроорганизмов, способности растений к поглощению и транслокации металлов, а также потенциальных рисков для здоровья человека при употреблении растений обработанных наночастицами. Применение стандартизованных подходов было необходимо для обеспечения сопоставимости полученных данных с результатами других исследований, объективности выводов и возможности проведения комплексной оценки ключевых аспектов безопасности применения нанотехнологий в сельскохозяйственной отрасли.

3. ВЛИЯНИЕ МЕТОДА ВНЕСЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА И МЕДИ НА АККУМУЛЯЦИЮ И БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС *PETROSELINUM CRISPUM* MILL. И ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОТЫ.

Для оценки влияния наночастиц металлов на систему почва-почвенная микробиота-растение в экспериментах применяли растворы AuNPs, AgNPs и CuNPs, стабилизированных поливинилпирролидоном (ПВП). Данные ПЭМ подтвердили сферическую морфологию всех типов наночастиц. Было установлено, что AuNPs размером 1-5 нм имели равномерное распределение в растворе, в то время как AgNPs (1-2 нм) были распределены менее однородно. Для CuNPs был характерен широкий диапазон размеров (15-70 нм), а также отмечена склонность к агрегации (Рис.3.1).

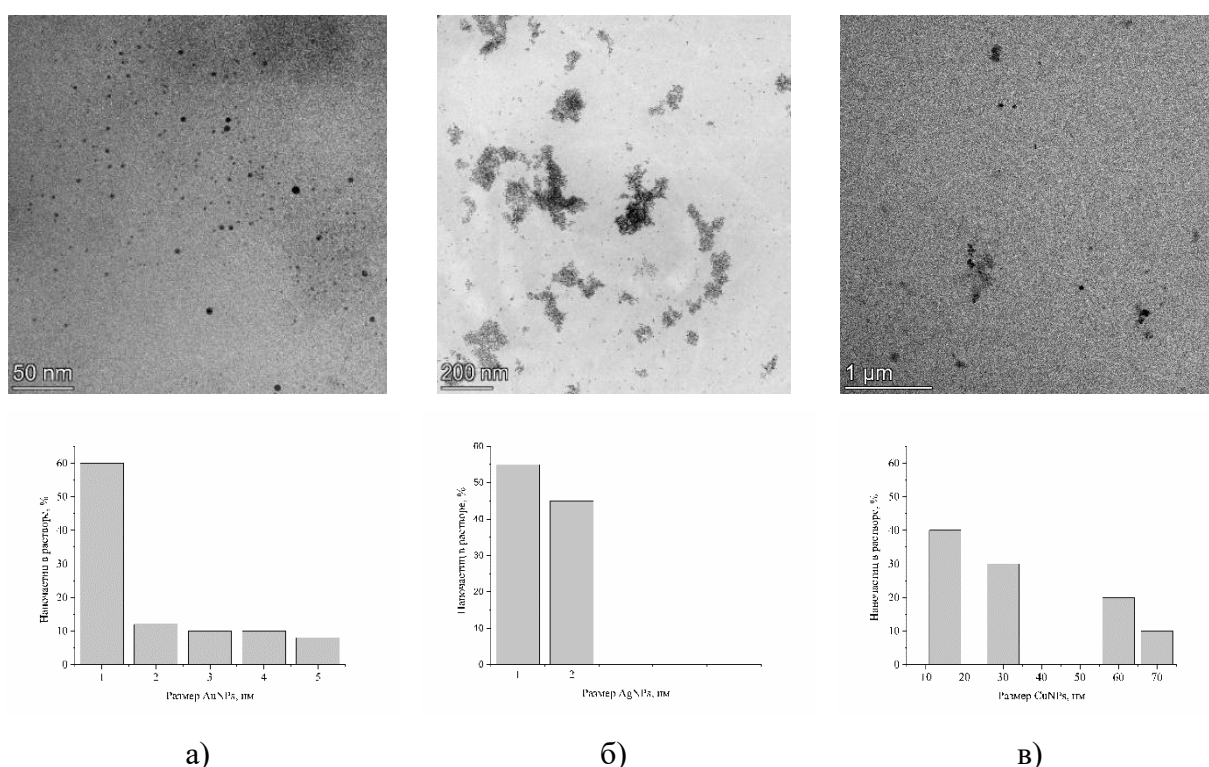


Рисунок 3.1. ПЭМ изображения (а) AuNPs, (б) AgNPs и (в) CuNPs, а также распределение наночастиц по размерам.

При оценке влияния НЧ на растения особый интерес представляют виды, имеющие пищевое и терапевтическое применение. Одним из таких растений является петрушка кудрявая (*Petroselinum crispum* Mill.), коммерчески значимая культура, широко известная своими лекарственными свойствами и высоким содержанием биологически активных соединений и эфирного масла [258]. Предполагается, что поглощение НЧ и эффекты для растений носят дозозависимый характер, определяясь также их размером, формой и концентрацией. Так, высокие концентрации могут оказывать негативное действие на состояние растений, в то время как слабо концентрированные растворы НЧ, напротив,

могут выступать в роли биостимуляторов, увеличивая синтез пигментов и антиоксидантов, тем самым повышая продуктивность растений и их устойчивость к неблагоприятным условиям среды [17,32,259,260].

Влияние НЧ металлов на *Petroselinum crispum* Mill. оценивали в экспериментах с прикорневым и листовым внесением растворов CuNPs и AuNPs [261]. Работу проводили на окрепших 60-дневных растениях, предварительно выращенных в почвенном грунте. Растения опытных групп обрабатывали растворами CuNPs и AuNPs в концентрациях 1, 5, 10, 50 и 100 мг/л. Обработку проводили каждые 48 часов в течение 10 дней: при орошении вносили по 10 мл раствора в прикорневую часть почвы, при опрыскивании наносили по 2 мл раствора на листовую поверхность. В экспериментах с опрыскиванием растворами наночастиц поверхность почвы экранировали алюминиевой фольгой для предотвращения попадания наночастиц в почвенный субстрат. Контрольную группу поливали или опрыскивали эквивалентным объемом дистиллированной воды. По окончании эксперимента отбирали образцы почвы, а каждое растение разделяли на сегменты (корень, лист). После тщательной промывки, образцы высушивали, измельчали и далее проводили пробоподготовку к анализам (раздел 2.6). Измерения, проведенные с помощью ИСП-ОЭС/МС, позволили определить содержание меди и золота в образцах почвы и растений. Для проведения биохимических анализов с каждого растения отбирали свежую биомассу, замораживали и хранили при температуре –60 °С до проведения исследований.

3.1. Внесение наночастиц методом полива

3.1.1. Влияние AuNPs и CuNPs на биохимический статус растений

Орошение *Petroselinum crispum* Mill. растворами наночастиц AuNPs и CuNPs, привело к изменениям содержания пигментов и антиоксидантной активности (Рис.3.2-3.3). Наблюдаемые реакции различались для двух типов наночастиц. Введение AuNPs в почву в концентрации 1 мг/л привело к значительному увеличению количества каротиноидов (на 12,7%) и общего хлорофилла (на 25,9%) по сравнению с контролем, оказывая таким образом положительное действие на фотосинтетическую систему. Однако, обработка петрушки AuNPs в концентрациях более 10 мг/л привела к снижению содержания каротиноидов (на 15,7-43,8%) относительно контроля.

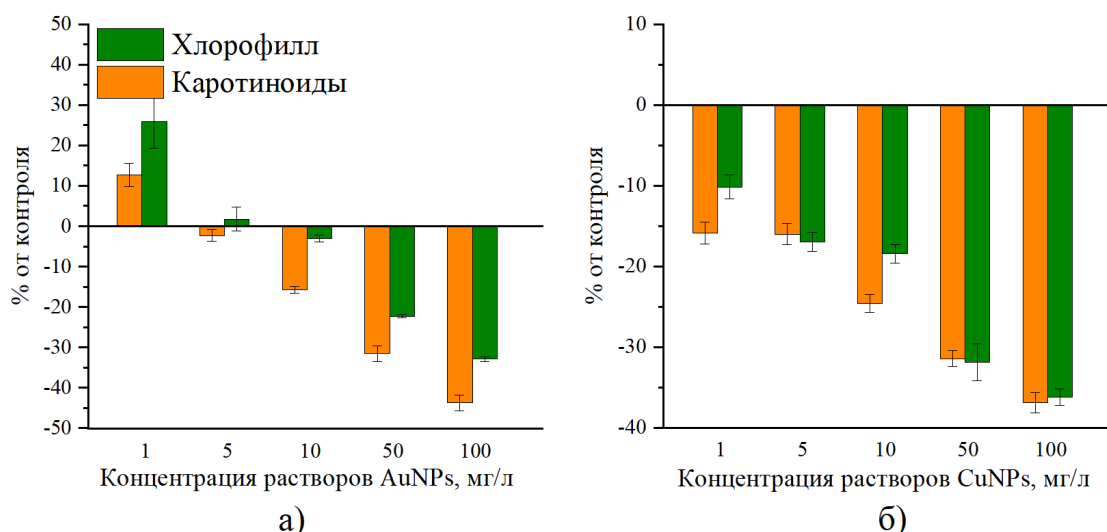


Рисунок 3.2. Изменение содержания каротиноидов и общего хлорофилла по отношению к контролю в надземных частях петрушки, выращенной в почве, обработанной (а) AuNPs и (б) CuNPs

Достоверное снижение общего содержания хлорофилла (на 22,3-32,9%) наблюдалось, начиная с концентрации 50 мг/л. Хотя тенденция к снижению содержания этих пигментов указывает на дозозависимый эффект, обратно пропорциональной зависимости достигнуто не было, и скорость снижения падала с увеличением концентрации наночастиц. Внесение CuNPs даже в самой низкой концентрации (1 мг/л), вызвали значительное снижение как содержания каротиноидов, так и общего содержания хлорофилла (на 10,2-37,4% по сравнению с контролем). Увеличение концентрации растворов CuNPs привело к снижению содержания каротиноидов до 44,4% по сравнению с контролем.

Антиоксидантную активность измеряли двумя методами: один основан на переносе электронов (тест ABTS), а другой на переносе протонов (тест DPPH). Обработка растений AuNPs прикорневым методом приводила к снижению антиоксидантного потенциала по данным теста ABTS на 32,7-41,9% во всем диапазоне концентраций (1-100 мг/л). Таким образом, во всех экспериментальных вариантах наблюдалось состояние стресса, вызванное присутствием золота в почве (рис.3.3.).

Результаты теста DPPH отличались от ABTS, при этом, они также отражали состояние стресса у *P. crispum* Mill. При внесении AuNPs в концентрации 1 мг/л способность экстракта ингибировать радикал DPPH в образце оставалась на уровне контроля, однако при AuNPs 5 мг/л и 10 мг/л антиоксидантная способность экстракта увеличилась на 112,1 и 24,1% соответственно по сравнению с контролем. Дальнейшее

повышение концентрации до 50 и 100 мг/л вызывало существенное снижение антиоксидантной активности - на 68,4% и 69,0% соответственно [261].

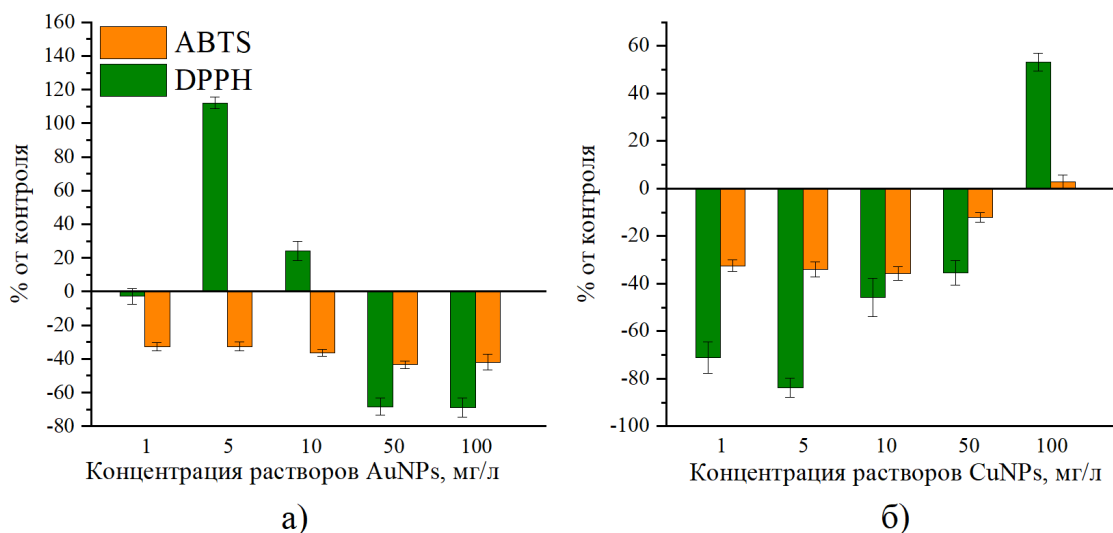


Рисунок 3.3. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из надземных частей петрушки, выращенной в почве, обработанной (а) AuNPs и (б) CuNPs

Обработка петрушки CuNPs вызывала значительные изменения антиоксидантной активности экстрактов, в большинстве случаев наблюдалось угнетение способности нейтрализовать радикалы по тестам DPPH и ABTS, за исключением концентрации CuNPs 100 мг/л. По тесту ABTS, снижение антиоксидантной активности составило 32,4–35,7% при концентрациях 1-10 мг/л, при 50 мг/л угнетение ослабло до 12,1%, а при 100 мг/л активность сравнялась с контролем.

В случае теста DPPH при концентрациях CuNPs 1–100 мг/л антирадикальная активность экстрактов, полученных из экспериментальных растений, была на 35,5–71,0 % ниже по сравнению с контролем. В варианте обработки прикорневой части растений 100 мг/л CuNPs, способность восстанавливать радикал DPPH увеличилась в 1,5 раза по отношению к контролю. Такая сложная зависимость между концентрацией растворов НЧ, используемых для полива, и полученной реакцией может быть вызвана способностью наночастиц меди агрегировать.

Прикорневая обработка петрушки AuNPs и CuNPs привела к дозозависимому увеличению содержания МДА на 7,3-50,0% и 16,3-56,6% соответственно (рис. 3.4). Наблюдаемое сочетание снижения уровня хлорофилла, каротиноидов и антиоксидантов на фоне увеличения содержания МДА у растений, обработанных НЧ, является классическим биохимическим профилем выраженного окислительного стресса и нарушения

адаптационных механизмов растений, что указывает на выраженную фитотоксичность применяемых НЧ.

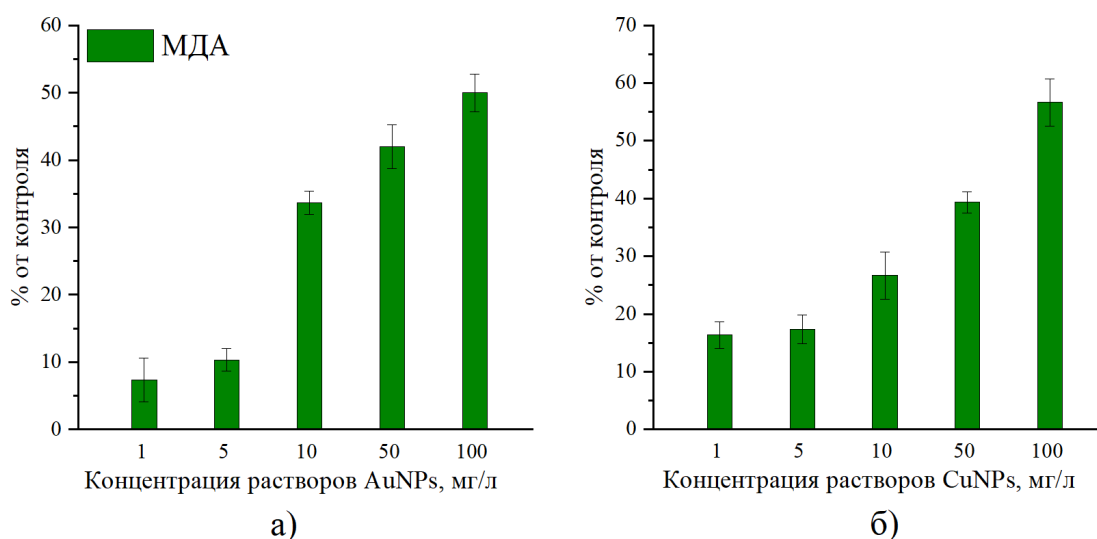


Рисунок 3.4. Измерение содержание малонового диальдегида в листьях петрушки в условиях прикорневого воздействия (а) AuNPs и (б) CuNPs

Полученные данные согласуются с литературными, в которых также отмечается стимулирующее действие низких концентраций AuNPs на рост таких сельскохозяйственных культур, как *Lactuca sativa*, *Cucumis sativus* и *Brassica juncea* [39,262], тогда как негативные эффекты наночастиц проявлялись при высоких дозах. В ряде исследований было отмечено, что фитотоксичность НЧ может проявляться при превышении видоспецифических пороговых значений, так, для *Phaseolus radiatus* ингибирующий эффект был отмечен при 800 мг/л [263], тогда как у *Triticum aestivum* нарушения возникали при 200 мг/л [264].

Отмечалось, что один из возможных механизмов токсичности наночастиц - подавление синтеза белков, участвующих в переносе веществ через клеточные мембраны, кроме того, высокие концентрации НЧ способны вызывать структурные повреждения клеток, приводя к нарушению регуляции жизненно важных метаболических процессов [263]. Токсическое действие НЧ также связывают с повреждением фотосинтетического аппарата. Например, у *Lemna gibba* обработка наночастицами оксида меди (до 4 г/л) приводила к дозозависимому угнетению роста вследствие снижения активности фотосистемы II и инактивации ее реакционных центров [265]. Ранее Wang с соавторами [266] было описано, что CuNPs могут изменять активность антиоксидантных ферментов и ингибировать накопление питательных веществ. В то же время положительные эффекты, вызываемые НЧ металлов, может объясняться эффектом гормезиса или сложным механизмом переноса генов и трансформации под воздействием или с участием наночастиц

[267]. Было отмечено, что низкие концентрации CuNPs стимулировали процессы биосинтеза у *Elodea densa*, который был замечен при концентрациях до 0,25 мг/л [268].

3.1.2. Влияние AuNPs и CuNPs на активность почвенной микробиоты

При оценке активности почвенной микробиоты после орошения растений петрушки CuNPs и AuNPs были обнаружены существенные изменения к 7-му и 30-му дням инкубации (рис.3.5). При сравнении контрольных вариантов активность микробиоты к 30-му дню возросла в 2,3 раза по сравнению с 7-м днем. В случае почв, обработанных CuNPs и AuNPs, прирост за тот же период составил 82% для обоих типов НЧ. К 7 дню инкубации сравнение с контролем показало, что после орошения CuNPs наблюдалось статистически достоверное снижение активности почвенной микробиоты на 19%, тогда как AuNPs, не вызвали достоверного снижения активности почвенной микробиоты. К 30-му дню инкубации в варианте с AuNPs активность почвенной микробиоты была на уровне контроля, а при воздействии CuNPs - на 37% ниже, чем в контроле.

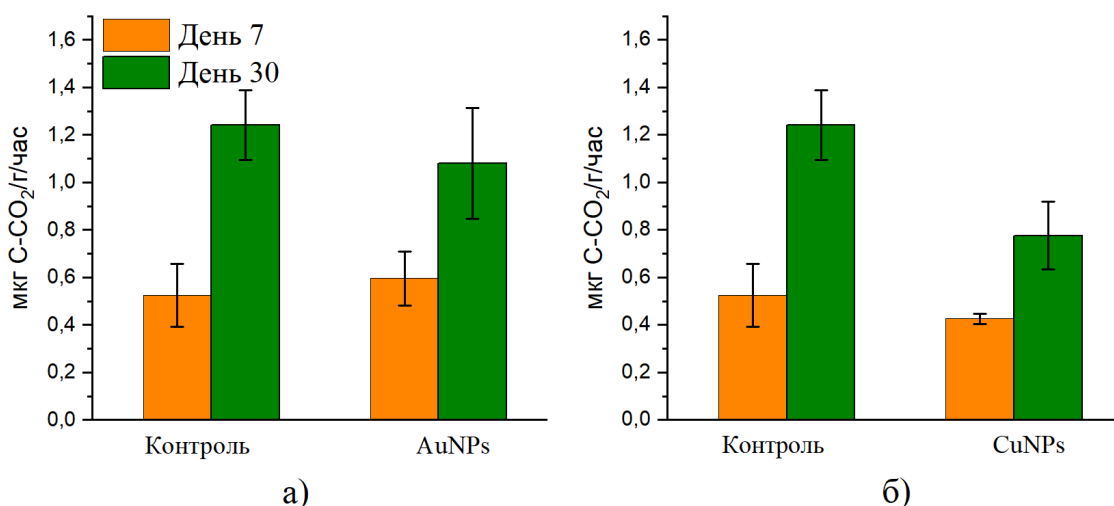


Рисунок 3.5. Изменение скорости дыхания микробиоты в почве, на которой росли растения петрушки, обработанные путем полива (а) AuNPs и (б) CuNPs.

Ингибирующее действие на почвенное дыхание при корневом орошении петрушки раствором AuNPs [261] не было замечено, в отличие от исследований на других культурах: у *Mentha spicata* L. снижение активности почвенной микробиоты составило 28% [269], а у *Calendula officinalis* L. - 30% [270]. В случае внесения CuNPs в почву на которой росла мята и календула, было отмечено снижение активности почвенной микробиоты на 65% [271] и на 38% [270] соответственно, в то время как 10-дневное орошение петрушки привело к снижению на 37% по сравнению с контролем, оказав ингибирующий эффект сопоставимый с замеченным в случае календулы.

Токсическое действие может быть связано с поверхностным покрытием наночастиц, зарядом, состоянием агрегации и высвобождением растворенных ионов [272], а также физико-химическими свойствами почв. В исследовании [53] воздействие 10-нм AuNPs в диапазоне концентраций 0,01–0,5 мкг/мл на ризосферные сообщества было неоднозначным, для сообществ водно-болотных угодий значимого эффекта не зафиксировано, а в суглинистой почве отмечено слабое стимулирование катаболических процессов. Данный эффект авторы связывают с наличием на поверхности AuNPs тонкого слоя цитрата, который инициировал кометаболизм с источниками углерода [53]. Также, предполагается, что глинистая фракция и органическое вещество в разных почвах взаимодействуют с наночастицами и снижают их токсичность [273]. Так, бактериальное сообщество в песчано-суглинистых почвах по сравнению с сообществами в песчано-глинистом суглинке было более восприимчиво к изменениям, вызванным воздействием наночастиц оксида меди. CuONPs оказал сильное влияние на гидролитическую активность бактерий, окислительный потенциал, состав и размер бактериального сообщества в почве, а также на важные группы почвенных бактерий, включая *Rhizobiales* и *Sphingobacteriaceae* [273].

3.1.3. Влияние AuNPs и CuNPs на накопление золота и меди в почве и сегментах *Petroselinum crispum* Mill. и в почве

Изменение биохимических параметров в петрушке в первую очередь связано с накоплением наночастиц в сегментах растений. Так, содержание меди в контрольной почве, корнях и листьях составляло 4,4, 9,65 и 10,4 мг/кг, соответственно, а золота - 0,07 мг/кг в корнях, 0,16 мг/кг в листьях и 0,046 мг/кг в почве (Рис. 3.6). Обработка растений AuNPs в исследуемом диапазоне концентраций (1-100 мг/л) не вызывала видимых нарушений, однако, полив растворами CuNPs в концентрациях 50, 100 мг/л привел к проявлению фитотоксичности, выразившихся в увядании листьев к 7-му дню эксперимента.

Распределение золота в сегментах *P. crispum* Mill. было дозозависимым: при низких концентрациях AuNPs (1 и 5 мг/л) золото преимущественно накапливалось в корневой системе (2,22 и 8,2 мг/кг соответственно), что превышало содержание в листьях в 1,66-4,9 раза. При более высоких концентрациях (10-100 мг/л) содержание золота в листьях незначительно отличалось от содержания в корнях, достигая максимума (28,22 мг/кг в корнях и 29,31 мг/кг в надземной части) при 100 мг/л. Предполагается, что интенсивное поглощение и транслокация золота, обусловлена их малым размером, что облегчает его проникновение в корневую систему [204,274].

Содержание меди в ризосферной почве увеличивалось по мере увеличения концентрации CuNPs в растворе. При минимальной концентрации CuNPs (1 мг/л) содержание меди в почве увеличилось в 3,3 раза относительно контроля, а при 100 мг/л - в 56,5 раз ($r = 0,98$).

Поглощение меди корневой системой растений при концентрациях растворов CuNPs 1-100 мг/л варьировало от 11,31 до 67,56 мг/кг соответственно. В отличие от корней, накопление меди в листьях не зависело от концентрации НЧ в растворе ($r = 0,01$) и статистически значимо отличалось от контроля лишь при использовании наночастиц в растворе 5 мг/л (рис.3.6).

Эффективность транслокации меди из корней в надземные части имела обратную зависимость от концентрации CuNPs в растворе. Распределение содержания меди в системе почва-растение представлено следующим образом: почва > корневая система > листья. Фитотоксическое действие CuNPs, вероятно, связано с их способностью высвобождать ионы металлов, что индуцирует окислительный стресс и приводит к интоксикации.

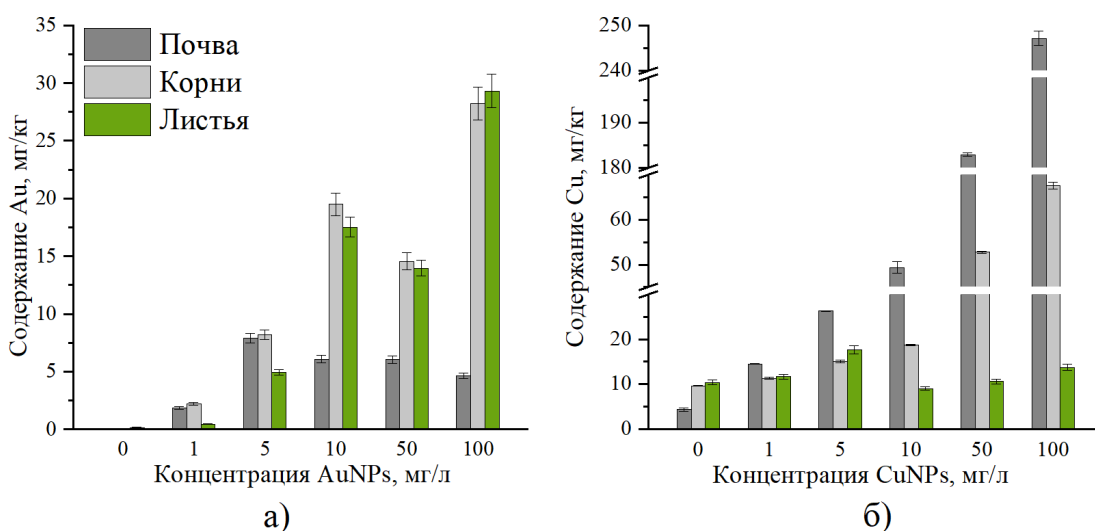


Рисунок 3.6. Содержание золота и меди в почве и сегментах петрушки, выращенной в почве, обработанной (а) AuNPs и (б) CuNPs.

Накопление золота в почве и сегментах петрушки при всех примененных концентрациях было статистически значимым ($p < 0,005$) по сравнению с контролем. Рассчитанные коэффициенты КБК и КТ в случае орошения AuNPs указывают на его активный транспорт из почвы в надземные части растения. Наибольшие значения КБК для корней и листьев были получены при концентрациях AuNPs 10, 50 и 100 мг/л.

Значения КБК, рассчитанные для листьев и корней *Petroselinum crispum* Mill., обработанной CuNPs прикорневым способом, указывают на довольно слабый перенос меди

из почвы в сегменты растений. Для CuNPs все значения КБК были <1,0, в то время как КТ превышал 1,0 лишь при концентрациях 1 и 5 мг/л (Табл.3.1).

Поглощение и распределение наночастиц в растениях - сложный процесс, на который оказывает влияние множество факторов. К ним относятся физико-химические характеристики самих частиц (размер, форма, поверхностное покрытие), условия воздействия (концентрация, время экспозиции), биологические особенности растения (вид, состояние корневой системы) и процессы, происходящие в ризосфере [182,262,275].

Таблица 3.1. Коэффициенты транслокации (КТ) и биоконцентрации (КБК) для сегментов петрушки, выращенной в почве, обработанной AuNPs и CuNPs.

Концентрация НЧ в растворе, мг/л	КБК		КТ
	Корни	Листья	
CuNPs			
1	0,78	0,8	1,03
5	0,57	0,67	1,17
10	0,38	0,18	0,48
50	0,29	0,06	0,2
100	0,27	0,06	0,2
AuNPs			
1	1,2	0,24	0,2
5	1,04	0,62	0,6
10	3,21	2,88	0,9
50	2,41	2,31	0,96
100	6,08	6,32	1,04

Полученные результаты согласуются с ранее опубликованными данными, где Sabo-Attwood с соавторами [210] показали, что AuNPs диаметром 3,5 нм легко проникали в растения через корневую систему, тогда как накопления НЧ размером 18 нм не наблюдалось. Способность AuNPs к аккумуляции в корнях и последующим переносом в надземные части была также описана в работе, где объектами исследования выступали морковь, редис, салат и картофель. Было показано, что у редиса наиболее высокое содержание золота было определено в листьях, в то время как в съедобных клубнях картофеля оно было незначительным [262]. В то же время видоспецифичность поглощения подтверждается работой Judy и соавторов [209], где AuNPs размером 10, 30 и 50 нм с различными покрытиями (таннатом и цитратом) активно аккумулировались растениями

табака (*Nicotiana tabacum* L. cv Xanthi), но не были обнаружены в пшенице (*Triticum aestivum*).

Слабое поглощение CuNPs растениями *P. crispum* Mill. при орошении растворами 1-100 мг/л может быть связано с процессами агломерации НЧ, снижающей фактическое содержание НЧ, доступных для поглощения растениями [276]. Согласно исследованию Zhao и соавторов [277], низкая скорость перемещения наночастиц меди из корней в надземные ткани также может быть связана с активацией механизма защиты от стресса.

Транслокация меди в листья петрушки была незначительной, что согласуется с исследованием Tamez и соавторов [184], где было показано, что наночастицы меди в основном накапливались в корнях сахарного тростника, а перемещение меди в надземные ткани было минимальным. Также, Mosa с соавторами [180] установили преимущественное накопление меди в корневой системе *Cucumis sativus* под действием НЧ меди, причем аккумуляция сопровождалась выраженными признаками фитотоксичности, такими как снижение содержания фотосинтетических пигментов и уменьшение биомассы растений [180].

3.2. Внесение наночастиц методом опрыскивания.

3.2.1. Влияние AuNPs и CuNPs на биохимический статус растений

Внекорневой способ внесения удобрений и средств для борьбы с различными болезнями растений является альтернативой традиционной почвенно-корневой подкормки. Главное преимущество заключается в обеспечении прямой доставки питательных элементов через надземные части растений, значительно повысить эффективность их усвоения, минимизируя потери в почве. Кроме того, низкие дозы наночастиц могут действовать как стимулировать синтез хлорофилла, антиоксидантов и общую устойчивость растений, что в итоге ведет к повышению урожайности и качества сельскохозяйственной продукции [39,68]. Исследование López-Luna с соавторами [278] на авокадо, демонстрируют возможность значительного поглощения и транслокации CuNPs при внекорневой обработке, превосходящей по эффективности корневое внесение и инъекции.

Внесение AuNPs и CuNPs на листовую поверхность *Petroselinum crispum* Mill. оказало различное влияние на содержание фотосинтетических пигментов и антиоксидантной активности в зависимости от применяемой концентрации и типа НЧ (Рис. 3.7, 3.8).

Листовая обработка петрушки CuNPs оказывала угнетающее действие на синтез пигментов даже при минимальной испытанной концентрации 1 мг/л (содержание каротиноидов снизилось на 15,9%, а общего хлорофилла - на 18,2% по сравнению с

контролем). При этом отмечается выраженный дозозависимый эффект с высокой корреляцией ($r > 0,9$) при увеличении концентрации растворов НЧ: при максимальной концентрации 100 мг/л синтез каротиноидов снизился на 44,4%, а хлорофилла на 47,0% по сравнению с контролем.

Анализы ABTS и DPPH показали более низкую активность в экстрактах обработанной CuNPs петрушки по сравнению с контрольными необработанными растениями. По данным теста ABTS, снижение антиоксидантной активности в диапазоне CuNPs 1-50 мг/л составило 32,4–35,7%, а при 100 мг/л - 66%. Активность экстракта по отношению к радикалу DPPH, начиная с концентрации 5 мг/л была ниже по сравнению с контролем на 13-48%, а при концентрации 1 мг/л – была на уровне контроля.

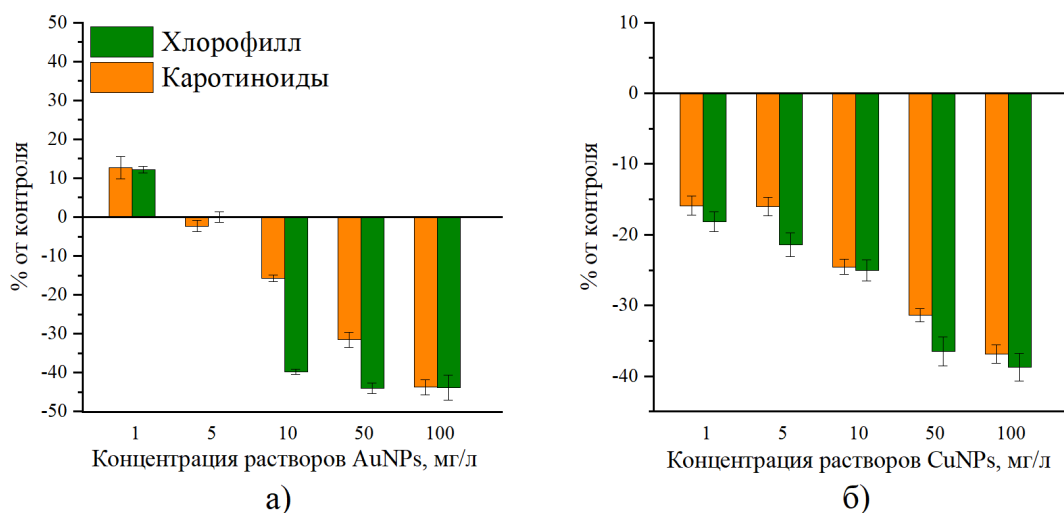


Рисунок 3.7. Изменение содержания каротиноидов и общего хлорофилла в надземных частях петрушки, подверженной листовой обработке (а) AuNPs и (б) CuNPs

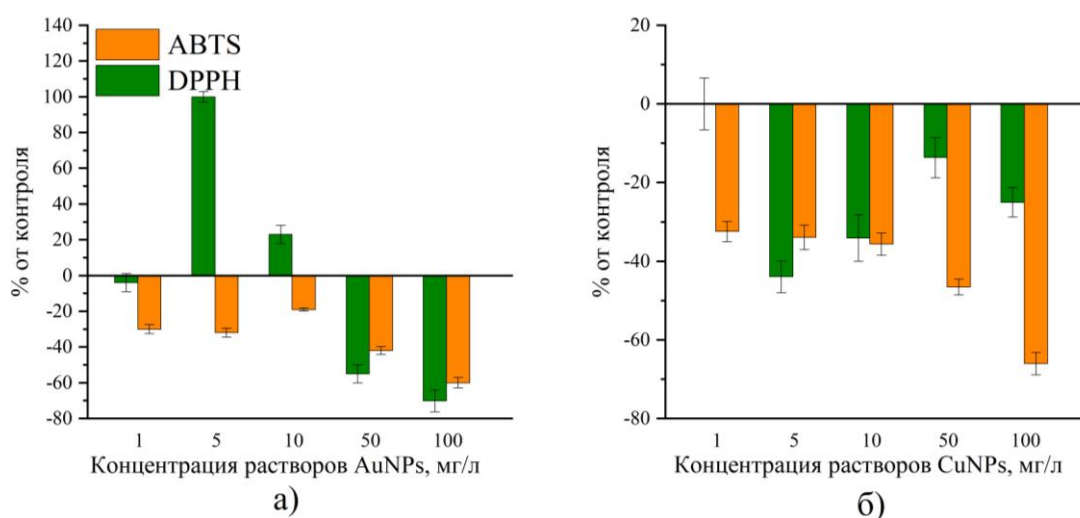


Рисунок 3.8. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из надземных частей петрушки, подверженной листовой обработке (а) AuNPs и (б) CuNPs

Обработка AuNPs оказывала дозозависимое и разнонаправленное влияние на фотосинтетические пигменты и антиоксидантную активность петрушки. Концентрация AuNPs 1 мг/л оказала стимулирующий эффект, вызвав значительное увеличение содержания каротиноидов (на 12,68%) и общего хлорофилла (на 12,21%) по сравнению с контролем. При опрыскивании петрушки раствором наночастиц серебра в концентрации 5 мг/л содержание пигментов в растениях было на уровне контроля, а растворы AuNPs 10 мг/л и более оказывали угнетающее действие на фотосинтетическую систему растений. Максимальное угнетение содержания (до 43,8%) двух групп пигментов - каротиноидов и хлорофилла наблюдалось при AuNPs 100 мг/л.

По данным теста ABTS наблюдалось снижение активности более чем на 32% уже при 1-5 мг/л AuNPs с дальнейшим падением (свыше 60% при 100 мг/л). Антирадикальная активность по отношению к DPPH носила нелинейный дозозависимый характер. В диапазоне концентраций AuNPs 1–10 мг/л активность сохранялась на контрольном уровне или возрастала, достигая максимального стимулирующего эффекта при 5 мг/л (увеличение на 100%). При более высоких концентрациях наблюдалось резкое угнетение активности, которое доходило до 70,2% относительно контроля.

Применение AuNPs в концентрациях 1-5 мг/л привело к снижению содержания МДА на 4,3-6,3%, в то время как более высокие концентрации вызывали его дозозависимое увеличение по сравнению с контролем (до 32,3% при AuNPs 100 мг/л), что является проявлением эффекта гормезиса (Рис.3.9). Обработка растений CuNPs способствовала увеличению содержания МДА на 12,7-58,5% при использовании растворов в концентрации 5-100 мг/л. Снижение содержания пигментов и антиоксидантной активности в сочетании с увеличением содержания МДА в листьях растений под действием НЧ свидетельствует о состоянии выраженного окислительного стресса.

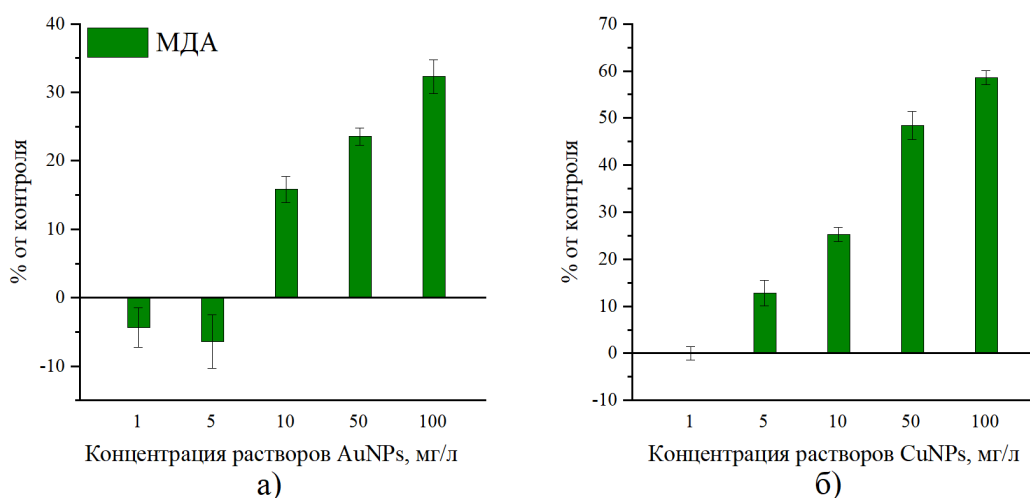


Рисунок 3.9. Изменение содержания малонового диальдегида в листьях петрушки в условиях листового воздействия (а) AuNPs и (б) CuNPs

Полученные результаты согласуются с другими исследованиями, демонстрирующими, что низкие концентрации наночастиц металлов (AgNPs, AuNPs) могут стимулировать синтез фотосинтетических пигментов [39,208,279] и повышать антиоксидантный потенциал растений [202]. Это указывает на проявление горметического эффекта, при котором низкие дозы оказывают благоприятное воздействие, а высокие - ингибирующее. Однако высокие концентрации НЧ демонстрируют фитотоксическое действие. Например, у риса (*Oryza sativa* L.) [280], огурца (*Cucumis sativus*) [180] и томата [281] воздействие CuNPs в диапазоне концентраций 10-250 мг/л приводило к значительному снижению содержания хлорофилла и каротиноидов.

3.2.2. Влияние AuNPs и CuNPs на накопление золота и меди в почве и сегментах *Petroselinum crispum* Mill.

В ходе 10-дневного эксперимента опрыскивание надземной части *Petroselinum crispum* Mill. растворами CuNPs и AuNPs не вызвало видимых повреждений [282]. Содержание меди в контрольных образцах составляло 4,37 мг/кг в почве, 9,65 мг/кг в корнях и 10,38 мг/кг в листьях (в пересчете на сухую массу). Содержание золота в контроле составило 0,046 мг/кг в почве, 0,07 мг/кг в корнях и 0,16 мг/кг в надземной части петрушки (рис. 3.10).

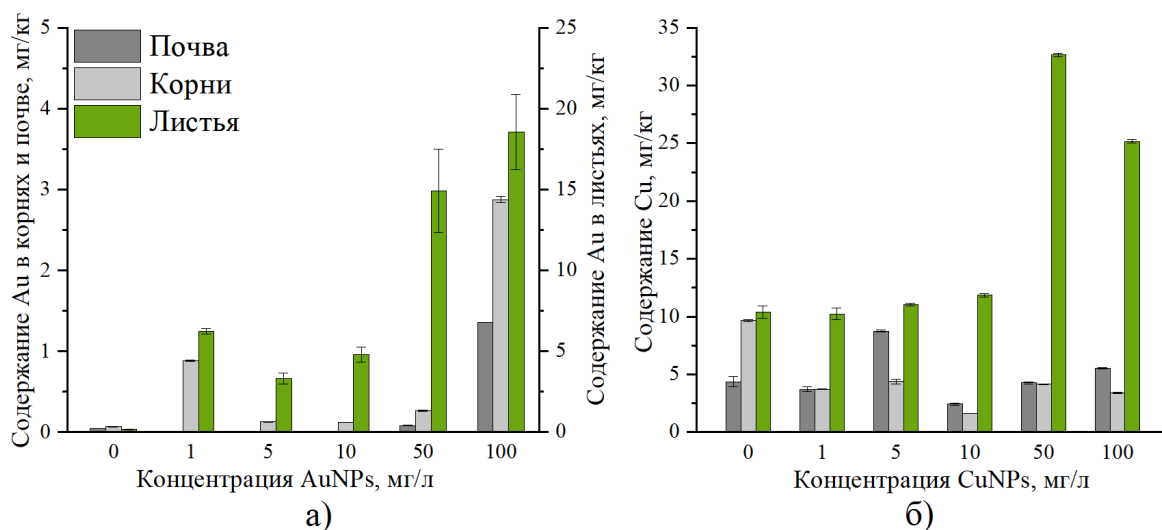


Рисунок 3.10. Содержание золота и меди в почве и сегментах петрушки, подверженной листовой обработке (а) AuNPs и (б) CuNPs.

Содержание меди в листьях при листовой обработке CuNPs 1-10 мг/л соответствовало контрольным значениям, однако при повышении концентрации до 50 и 100 мг/л наблюдалось увеличение содержания меди в 3 и 2,5 раза соответственно. В то же время у растений, подвергшихся воздействию наночастицами наблюдалось снижение содержания меди в корнях (в 2,2-6 раз). Максимальное снижение содержания меди в корнях (до 1,62 мг/кг) наблюдалось при использовании 10 мг/л CuNPs. Слабый транспорт меди в тканях

растений подтверждается значениями КТ <1,0 (табл.3.2). Образование агрегатов CuNPs в растворе может объяснить слабый транспорт меди к корневой системе.

Таблица 3.2. Коэффициент транслокации меди и золота в сегментах петрушки, подверженной внекорневой обработке AuNPs и CuNPs.

Концентрация НЧ в растворе, мг/л	КТ (Cu)	КТ (Au)
1	0,362	0,141
5	0,397	0,038
10	0,136	0,025
50	0,127	0,018
100	0,135	0,155

Листовая обработка *Petroselinum crispum* Mill. растворами AuNPs привела к дозозависимому накоплению золота в тканях растений. Содержание золота в надземных частях коррелировало с концентрацией растворов ($r = 0,95$ при $p < 0,005$), возрастая с 6,23 до 18,5 мг/кг. Рассчитанные коэффициенты транслокации (КТ <1), как и в случае листовой обработки CuNPs, свидетельствуют о слабом перемещении золота из листьев в корни. В корневой системе изменения были менее выражены ($r = 0,81$ при $p < 0,005$) - с 0,88 до 2,87 мг/кг. Накопление золота в корнях и почве при использовании 100 мг/л AuNPs, можно объяснить их переносом по тканям растения к корневой системе с последующим выделением в ризосферу через корневые экссудаты, что ранее было отмечено в исследовании на пшенице [207].

Полученные результаты согласуются с ранее опубликованными данными Arora и соавторов [39], демонстрирующими увеличение содержания золота в надземной биомассе *Brassica juncea* после листовой обработки. На и соавторы в работе с *Perilla Frutescens* [283] предположили, что ультрадисперсные частицы поглощаются через устьичные пути. Kohatsu с соавторами [284] отметили, что медь, внесенная листовым способом как в форме CuSO₄, так и CuONPs преимущественно локализовалась в листьях салата без транслокации в корни, что согласуется с результатами, полученными при обработке CuNPs *Petroselinum crispum* Mill.

3.3. Оценка рисков для здоровья человека, связанных с употреблением *Petroselinum crispum* Mill., обработанной AuNPs и CuNPs

Согласно рекомендациям ВОЗ, суточное потребление овощей должно составлять не менее 400 г, при этом одна порция должна быть представлена зелеными листовыми овощами. На основании этих данных для расчета оценочной суточной дозы (ОСД) и коэффициента опасности (КО) принята величина потребления свежей зелени 80 г/сут

[285,286]. Было установлено, что величина ОСД возрастает с увеличением содержания золота и меди в съедобных частях петрушки (табл.3.3).

Во всех вариантах обработки CuNPs, а также при AuNPs в концентрациях 1-10 мг/л (в случае листового нанесения) и AuNPs 1-5 мг/л (орошение), значение КО оставалось меньше 1, что указывает на отсутствие значительного риска для здоровья. В то же время для петрушки, обработанной AuNPs методом опрыскивания в концентрациях 50-100 мг/л, а в случае орошения еще и AuNPs 10 мг значение КО превысило 1, что свидетельствует о потенциальной опасности для здоровья при регулярном употреблении загрязненной зелени.

Для комплексной оценки рисков для здоровья человека необходимы долгосрочные токсикологические исследования, направленные на изучение эффектов хронического поступления наночастиц металлов с пищевыми продуктами. Параллельно требуется разработка нормативных документов, устанавливающих безопасные уровни перорального потребления металлов, находящихся именно в наноформе.

Таблица 3.3. Расчетные значения ОСД и КО для зеленых частей петрушки, обработанных AuNPs и CuNPs.

	Концентрация растворов НЧ, мг/л	Содержание в листьях, мг/кг	ОСД	КО
<i>Листовое внесение</i>				
Cu	Контроль	10,38	$1,19 \times 10^{-3}$	0,03
	1	10,23	$1,17 \times 10^{-3}$	0,03
	5	11,04	$1,26 \times 10^{-3}$	0,03
	10	11,86	$1,36 \times 10^{-3}$	0,03
	50	32,65	$3,73 \times 10^{-3}$	0,09
	100	25,17	$2,88 \times 10^{-3}$	0,07
Au	Контроль	0,16	$1,84 \times 10^{-5}$	0,01
	1	6,23	$7,13 \times 10^{-4}$	0,54
	5	3,33	$3,80 \times 10^{-4}$	0,29
	10	4,80	$5,48 \times 10^{-4}$	0,42
	50	14,91	$1,70 \times 10^{-3}$	1,29
	100	18,55	$2,12 \times 10^{-3}$	1,61
<i>Корневое орошение</i>				
Cu	Контроль	10,38	$1,19 \times 10^{-3}$	0,03
	1	11,67	$1,33 \times 10^{-3}$	0,03
	5	17,61	$2,01 \times 10^{-3}$	0,05
	10	9,07	$1,04 \times 10^{-3}$	0,03
	50	10,60	$1,21 \times 10^{-3}$	0,03
	100	13,72	$1,57 \times 10^{-3}$	0,04
Au	Контроль	0,16	$1,84 \times 10^{-5}$	0,01
	1	0,45	$5,15 \times 10^{-5}$	0,04
	5	4,93	$5,63 \times 10^{-4}$	0,43
	10	17,52	$2,00 \times 10^{-3}$	1,52
	50	13,96	$1,60 \times 10^{-3}$	1,21
	100	29,31	$3,35 \times 10^{-3}$	2,54

3.4. Выводы к Главе 3

1. Установлено, что при прикорневом внесении растворов AuNPs и CuNPs основная часть металлов аккумулируется в почвенном субстрате и корневой системе растений,

причем уровень их накопления возрастает с увеличением концентрации растворов, тогда как при опрыскивании поступление наночастиц в почву значительно ограничено и возможно преимущественно вследствие обратной транслокации из надземных органов растений с последующим выделением в ризосферу.

2. При проведении прикорневого орошения AuNPs было выявлено, что золото активно поглощалось корневой системой *Petroselinum crispum* Mill., причем накопление и распределение в сегментах растений зависели от концентрации НЧ. В случае применения низких концентраций (до 10 мг/л) золото преимущественно накапливалось в корневой системе, в то время как при более высоких концентрациях растворов, золото активнее накапливалось в надземной части петрушки. При обработке *Petroselinum crispum* Mill. CuNPs было выявлено, что медь преимущественно накапливается в корневой системе с минимальной транслокацией в листья.

3. Биохимический отклик *Petroselinum crispum* Mill. на воздействие НЧ зависел как от их типа, а также от концентрации. Низкие концентрации AuNPs оказывали выраженное стимулирующее действие на фотосинтетический аппарат, а CuNPs способствовали снижению содержания хлорофилла и каротиноидов, даже при минимальных концентрациях растворов НЧ. Таким образом необходимо точное дозирование и подбор типа наночастиц для потенциального агротехнологического применения.

4. При листовом внесении CuNPs оказали выраженное токсическое действие, угнетая фотосинтетические пигменты и антиоксидантную систему даже в низких концентрациях, в то время как AuNPs продемонстрировали горметический эффект, где низкие концентрации (AuNPs 1 мг/л) стимулировали накопление фотосинтетических пигментов и повышали антиоксидантную активность, а высокие концентрации вызывали обратный эффект. Таким образом, AuNPs в низких концентрациях можно рассматривать в качестве биостимуляторов для нужд сельского хозяйства.

5. Оценка активности почвенной микробиоты позволила выявить разное действие CuNPs и AuNPs. Так, наночастицы золота не приводят к значимому изменению активности почвенной микробиоты, в то время как CuNPs ингибировали почвенное дыхание на 37% по отношению к контролю. Необходимы дополнительные исследования состава микробных сообществ, физико-химических свойств почв для интерпретации таких эффектов.

6. Оценка риска для здоровья человека показала, что употребление в пищу петрушки, обработанной низкими концентрациями AuNPs и CuNPs, не представляет значительной опасности в долгосрочной перспективе. Однако, накопление золота в съедобных частях петрушки более 13,96 мг/кг способно оказывать неблагоприятное действие на здоровье.

Представленные в данной главе результаты и выводы были опубликованы в рецензируемых журналах, индексируемых в WoS и Scopus [261,282].

4. ВЛИЯНИЕ МЕТОДА ВНЕСЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ *CALENDULA OFFICINALIS* L., МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА И НАКОПИТЕЛЬНУЮ СПОСОБНОСТЬ РАСТЕНИЙ.

Для оценки действия НЧ на систему «почва-почвенная микробиота-растение» в качестве тест-объекта была выбрана календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.), имеющая значительное фармакологическое значение. Растения культивировали в контролируемых лабораторных условиях до фазы начала бутонизации с поливом дистиллированной водой. Через 60 суток после появления всходов проводили обработку НЧ. Внесение AuNPs, AgNPs и CuNPs осуществляли в виде водных суспензий в концентрациях 1, 5, 10, 50 и 100 мг/л. Обработку выполняли с интервалом 48 часов двумя независимыми способами: прикорневым орошением (30 мл раствора на растение) и опрыскиванием листовой поверхности (2 мл на растение). Общая продолжительность эксперимента составила 28 дней, по окончании которого был проведен отбор образцов. С каждого варианта эксперимента отбирали растение целиком вместе с почвой. Растение разделяли на корневую и надземную части (стебли, листья, цветки). Полученную биомассу использовали для биохимических анализов, а образцы почвы и отдельных частей растения - для определения элементного состава.

4.1. Внесение наночастиц методом полива

4.1.1. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на биохимический статус растений

Прикорневая обработка всеми типами НЧ оказала влияние на морфометрические показатели и развитие *Calendula officinalis* L., причем наиболее выраженные негативные эффекты были вызваны воздействием AgNPs, приводящими к полному ингибированию формирования бутонов и цветков. В процессе вегетации также наблюдалось скручивание стеблей и листьев (Рис.4.1), что в среднем снижало высоту растений на 10 см по сравнению с контролем (50 см) и другими экспериментальными вариантами. Внесение AuNPs в концентрациях 1-5 мг/л вызывали скручивание лепестков и листьев. При этом, действие CuNPs было схоже с AgNPs, так обработка календулы CuNPs в концентрациях 1–100 мг/л приводила к снижению высоты растений (до 35 см) и уменьшению скорости бутонизации по сравнению с контролем. Результаты измерения высоты растений, зафиксированные на 28 день эксперимента представлены в таблице 4.1.



Рисунок 4.1. Внешний вид растений *Calendula officinalis* L. при корневой обработке растворами наночастиц металлов (перечисление слева направо) (а) контроль (без обработки), (б) CuNPs 1-10 мг/л, (в) CuNPs 50-100 мг/л, AuNPs 1 мг/л, (г) AuNPs 5-50 мг/л, (д) AuNPs 100 мг/л, AgNPs 1-5 мг/л, (е) AgNPs 10-100 мг/л, (ж) деформация лепестков после обработки AuNPs 5 мг/л

Таблица 4.1. Высота растений календулы, выращенной в почве, обработанной AuNPs, AgNPs и CuNPs.

Концентрация растворов, мг/л	Высота растений после обработки AuNPs, см	Высота растений после обработки AgNPs, см	Высота растений после обработки CuNPs, см
Контроль		50±0,2	
1	50,1±0,2	50,3±0,2	33,2±0,1
5	33,2±0,1	33,1±0,2	35,2±0,2
10	33,1±0,2	28,2±0,1	35,1±0,2
50	33,3±0,1	33,3±0,2	34,2±0,1
100	33,2±0,1	30,2±0,1	35,1±0,2

Содержание общего хлорофилла в листьях календулы, обработанной растворами AuNPs, AgNPs и CuNPs, статистически значимо ($p < 0,005$) превышало контрольные

значения на 22,12–82,43%, независимо от типа примененных наночастиц. При воздействии AgNPs наблюдалось увеличение выработки хлорофилла во всем диапазоне примененных концентраций 1-100 мг/л (34,45–80,83% по сравнению с контролем). При этом наибольший положительный эффект на выработку хлорофилла отмечен при AgNPs 50-100 мг/л (80,83 и 80,18% соответственно) по сравнению с контролем. При обработке календулы AuNPs и CuNPs концентрации наночастиц 1, 5 и 10 мг/л стимулировали его синтез, тогда как более высокие концентрации (50 и 100 мг/л) вызвали снижение значения стимулирующего эффекта (рис.4.2).

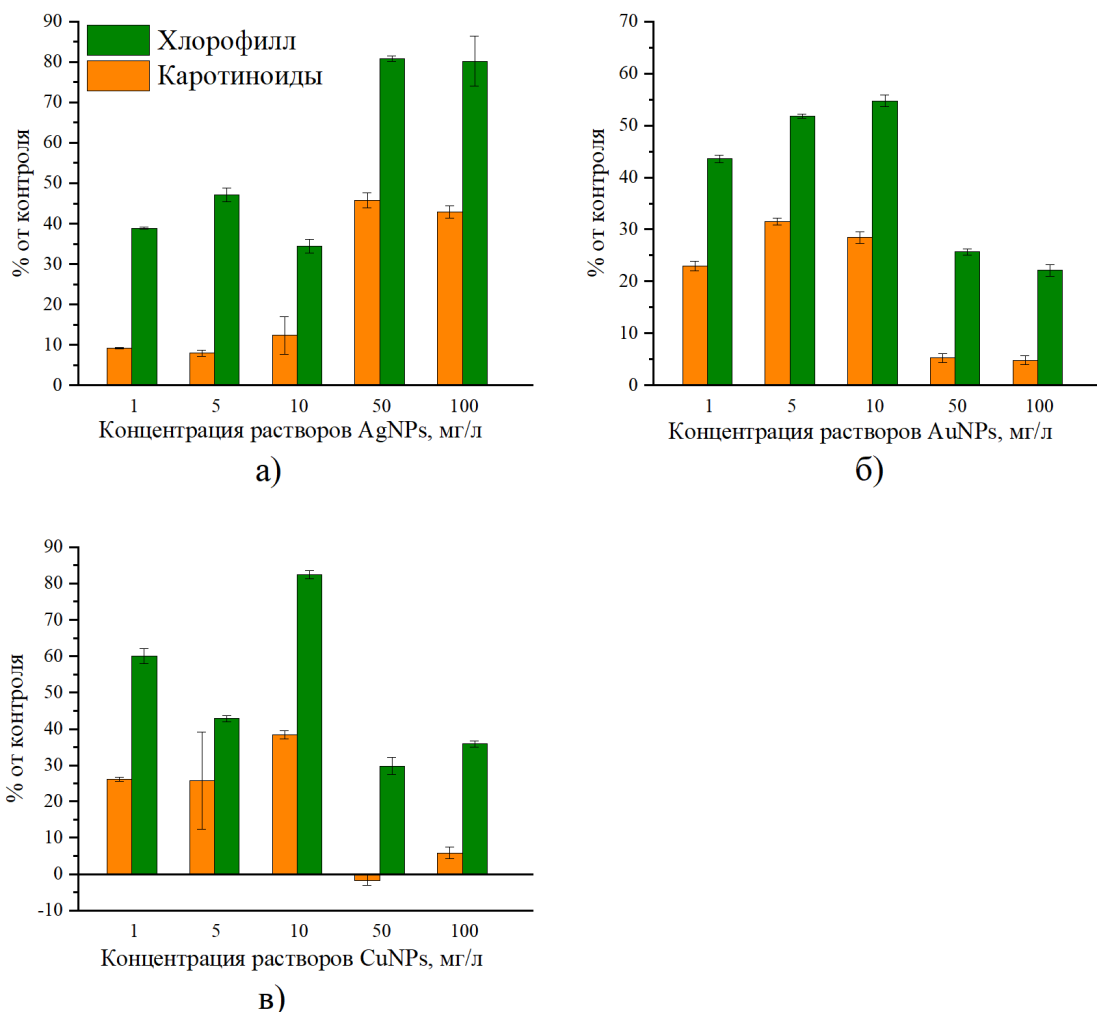


Рисунок 4.2. Изменение содержания общего хлорофилла и каротиноидов в листьях календулы, в случае прикорневой обработки (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

Прикорневая обработка AuNPs и CuNPs вызвали увеличение содержания каротиноидов в листьях на 23,09–38,49% относительно контроля только при низких концентрациях (1, 5 и 10 мг/л), а при более высоких (50 и 100 мг/л) их содержание было сопоставимо с необработанными растениями. Для AgNPs, как и в случае с хлорофиллом, высокие концентрации (50 и 100 мг/л) также оказывали стимулирующее действие на синтез каротиноидов, где отмечалось максимальное увеличение на 45,74% и 42,80%

соответственно. Обработка растений календулы AgNPs путем орошения также привела к заметному увеличению антиоксидантной активности и содержание фенолов в листьях: способность ингибировать радикал катион $ABTS^{\cdot+}$ увеличивались на 17,80-29,73%, а способность ингибировать радикал $DPPH^{\cdot}$ - на 30,36-58,55% относительно контроля (рис.4.3).

CuNPs проявляли стимулирующий эффект только при низких концентрациях (1 и 5 мг/л), увеличивая показатели при тесте ABTS на 18,9-26,8% и при DPPH на 26-51%. При более высоких концентрациях (10-100 мг/л) антиоксидантная активность либо соответствовала уровню контроля, либо снижалась. При обработке AuNPs по тестам ABTS и DPPH увеличение антиоксидантной активности на 70% ($p < 0,005$) по сравнению с контролем было отмечено при наименьшей использованной концентрации 1 мг/л.

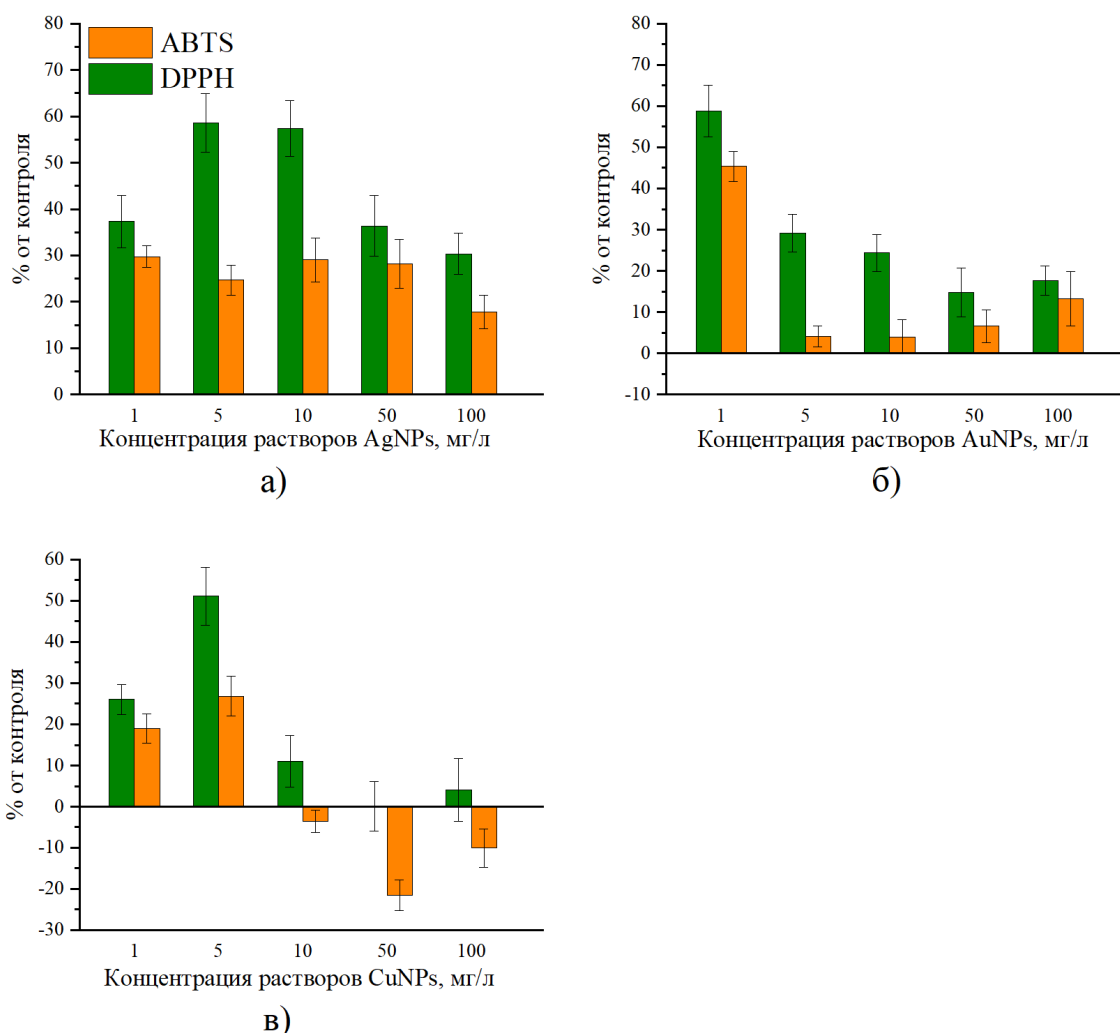


Рисунок 4.3. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из листьев календулы, подверженной обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs путем орошения

Концентрация AuNPs и CuNPs 1 мг/л также привела к увеличению содержания фенолов на 18,27 и 15,98 % соответственно по сравнению с контролем ($p < 0,005$). Наиболее выраженное стимулирование выработки фенольных соединений было вызвано обработкой растений AgNPs в концентрации 50 мг/л (рис.4.4).

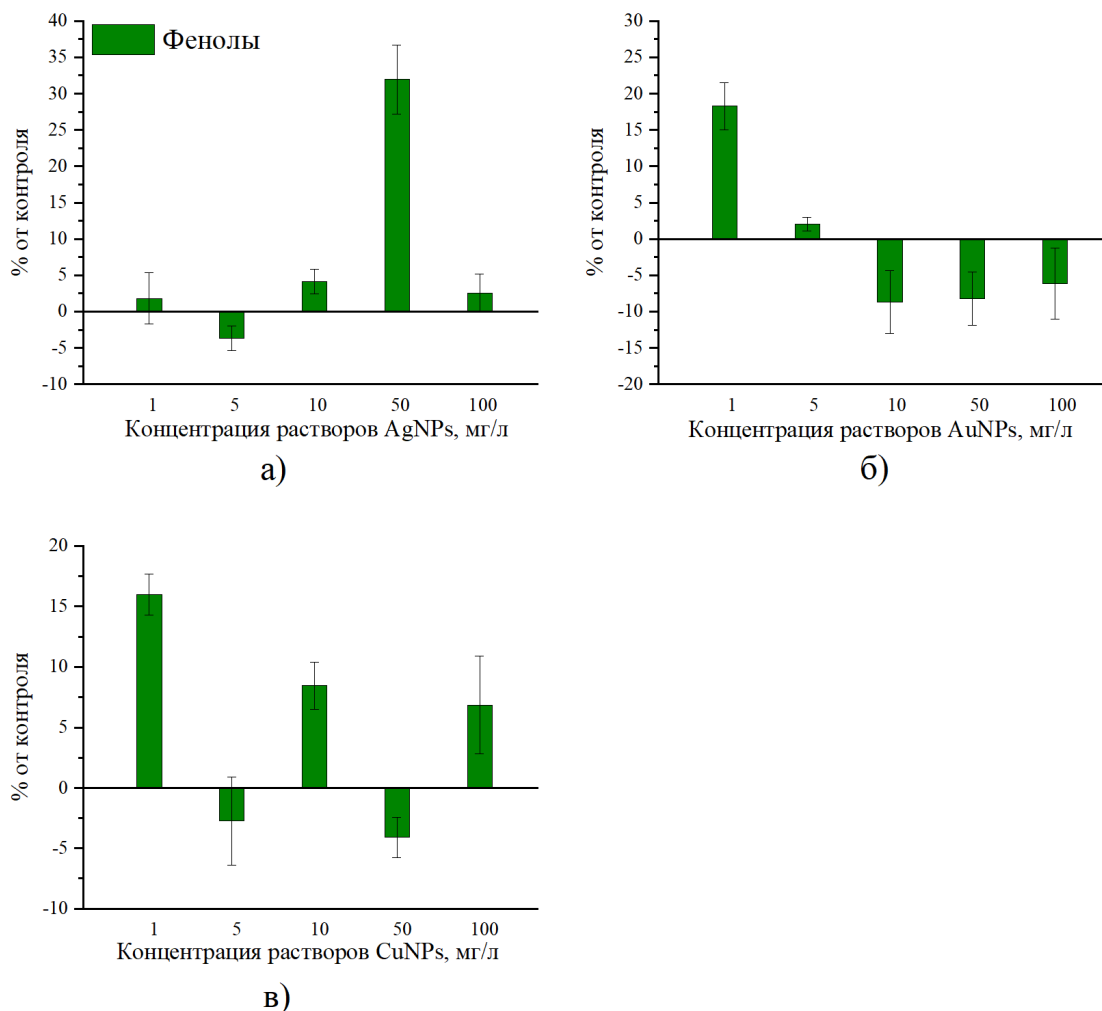


Рисунок 4.4. Изменение содержания фенолов в листьях календулы в условиях прикорневого воздействия (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

Воздействие AgNPs в диапазоне концентраций 10–100 мг/л индуцировало выраженное снижение уровня МДА в растительных тканях на 75–87,2% относительно контроля, тогда как при использовании более низких концентраций AgNPs значимых изменений не наблюдалось. При этом, применение CuNPs в тех же концентрациях привело к уменьшению содержания МДА на 8,8–18,6%. Обработка AuNPs в концентрации 50–100 мг/л также вызвала снижение содержания МДА на 73,4–76,8%, в то время как при низких концентрациях содержание соответствовало контролю (рис.4.5). Снижение содержания МДА на фоне повышения антиоксидантной активности и увеличения содержания пигментов в растительных тканях свидетельствует об эффективной адаптивной реакции растения на стресс, вызванный НЧ.

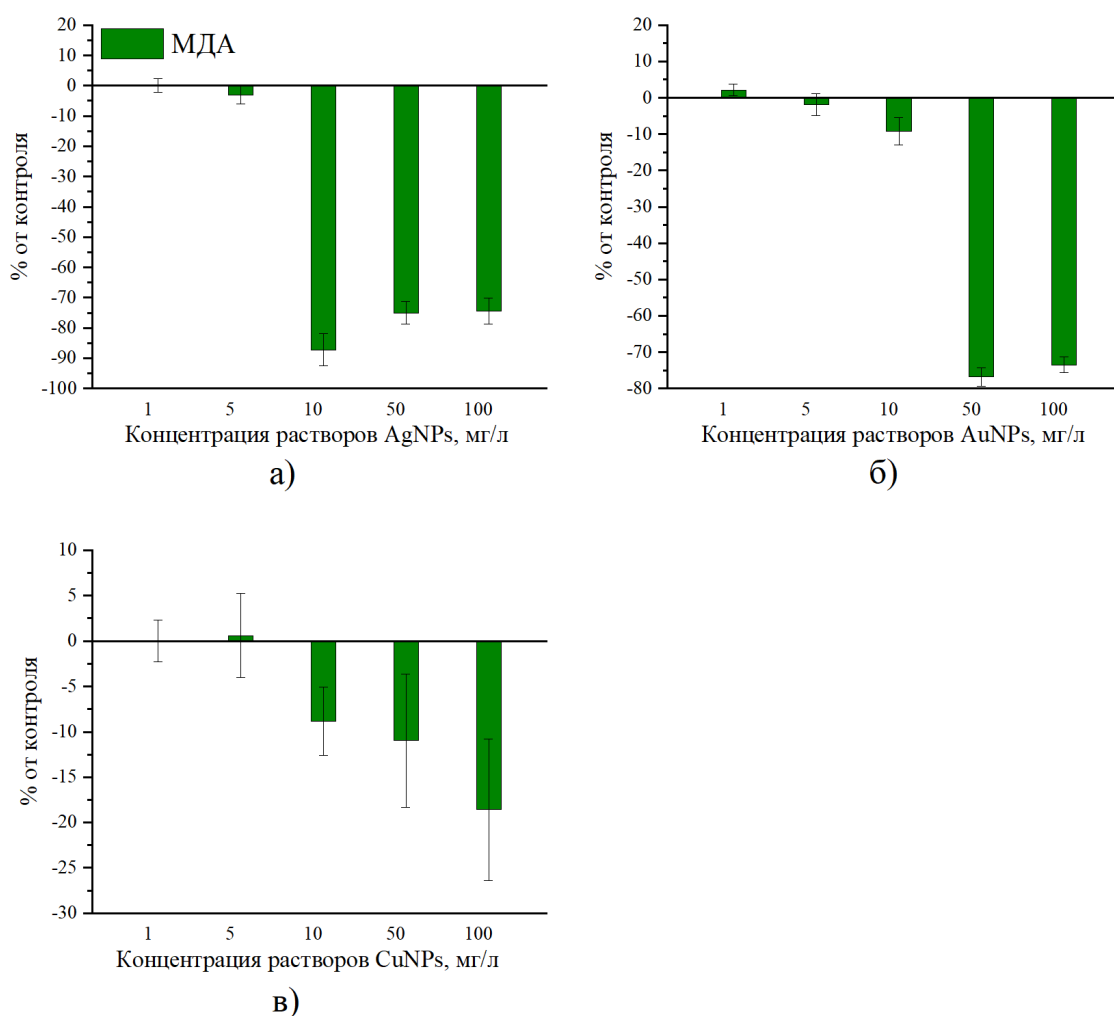


Рисунок 4.5. Изменение содержания малонового диальдегида в листьях календулы в условиях прикорневого воздействия (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

Наблюдаемые эффекты сопоставимы с данными других исследователей, где было показано, что AgNPs могут ингибировать рост побегов и корней [188], снижать биомассу, содержание фотосинтетических пигментов и эффективность фотосинтеза [192]. По данным Mosa и соавторов [180], наночастицы меди способны вызывать неблагоприятные фенотипические изменения и снижение биомассы и уровня хлорофилла у *Cucumis sativus*.

Ряд исследований подтверждают, что влияние НЧ на содержание хлорофилла вызывает существенные физико-химические изменения, напрямую влияющие на фотосинтетическую активность растений [177–179], а также вызывают изменения антиоксидантной активности у высших растений [287,288].

4.1.2. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на активность почвенной микробиоты

Внесения растворов НЧ в концентрации 100 мг/л способствовало накоплению золота, серебра и меди в почве, что также оказало существенное влияние на скорость почвенного дыхания. На 7 день инкубации было отмечено снижение активности почвенной микробиоты на 31 и 24% под действием AgNPs и CuNPs соответственно, при этом внесение

AuNPs способствовало ее увеличению на 58% по сравнению с контролем. Однако к 30 дню инкубации скорость выделения CO₂ снизилась во всех вариантах обработки НЧ, в то время как в контрольном варианте было отмечено увеличение скорости дыхания на 30%.

Наиболее выраженный ингибирующий эффект на микробную активность оказали AgNPs (на 30 день инкубации), под действием которых скорость дыхания снизилась на 73% по сравнению с контролем, при этом воздействие AuNPs и меди CuNPs было сопоставимым, приводя к снижению на 30 и 38% соответственно (Рис.4.6).

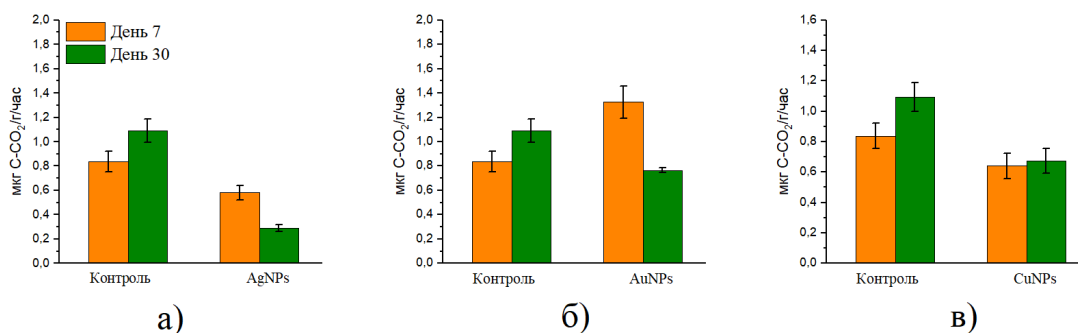


Рисунок 4.6. Изменение скорости дыхания микробиоты в почве, обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.

Серебро традиционно рассматривается как элемент с наиболее высокой биоцидной активностью [289], эффективный против широкого спектра бактерий, грибов и вирусов. Благодаря своим малым размерам, способности к контролируемому высвобождению ионов и свойствам, наночастицы серебра представляют собой высокоэффективные, а в ряде случаев оптимальные биоцидные агенты для применения в медицине и пищевой промышленности [290]. Широко известные антимикробные свойства серебра, золота и меди проявляются особенно выражено в наноформе, что связано как с увеличением площади поверхности, так и с другими особенностями наночастиц [291]. Таким образом, установленные ингибирующие эффекты, особенно в случае AgNPs, в совокупности с их известной антимикробной активностью указывают на значительный экологический риск при их накоплении в почвенной среде.

4.1.3. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на накопление серебра, золота и меди в почве и сегментах *Calendula officinalis* L. и в почве

Согласно результатам элементного анализа было выявлено, что содержание золота, серебра и меди в контрольных образцах почвы составило 0,09, 0,04 и 7,38 мг/кг соответственно. В результате 28-дневного эксперимента с прикорневым внесением растворов AuNPs, AgNPs и CuNPs к *Calendula officinalis* L., было зафиксировано значительное накопление соответствующих металлов в почве, а также различия в поглощении растениями (Рис.4.7). Максимальное содержание меди, золота и серебра в

обработанных наночастицами почвах составляло 919, 2498 и 2888 мг/кг соответственно, и во всех случаях оно было достигнуто при применении самой высокой концентрации растворов НЧ 100 мг/л.

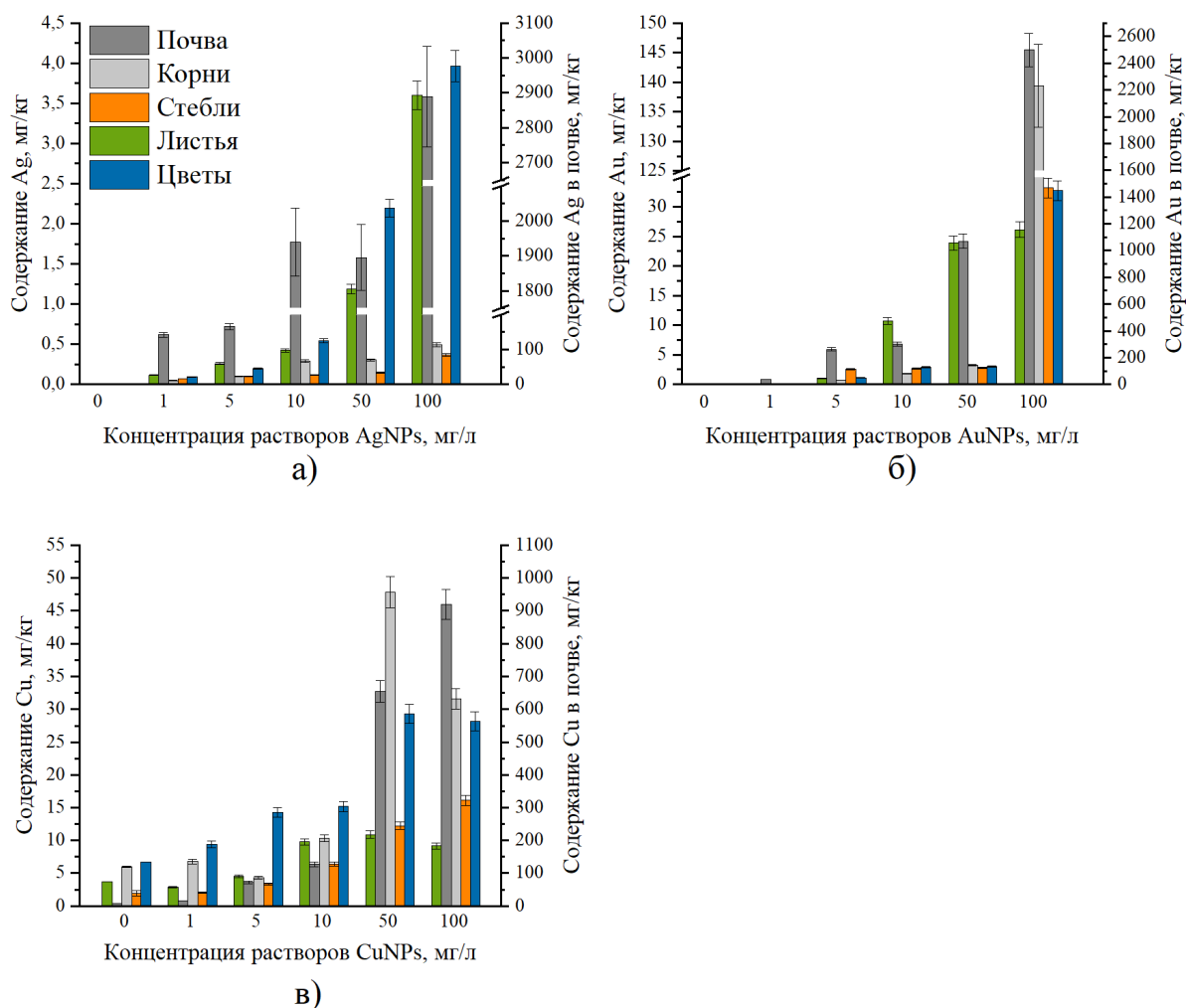


Рисунок 4.7. Содержание серебра, золота и меди в почве и сегментах календулы, выращенной в почве, обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs путем орошения.

Прикорневая обработка календулы лекарственной AuNPs приводила к дозозависимому накоплению золота во всех сегментах. Коэффициенты корреляции между внесенными концентрациями растворов и содержанием золота в корнях, стеблях, листьях и цветках составили 0,89, 0,9, 0,9 и 0,91 (при $p < 0,005$), соответственно. При орошении календулы растворами AuNPs 1 мг/л, а также в сегментах контрольных растений золото не было обнаружено. Распределение золота по сегментам растений варьировало в зависимости от концентрации применяемых растворов. При низкой концентрации AuNPs (5 мг/л) максимальное содержание золота отмечено в стеблях (2,6 мг/кг), тогда как при концентрациях 10 и 50 мг/л золото преимущественно локализовалось в листьях (10,71 и

23,88 мг/кг соответственно). Наибольшее накопление золота в сегментах растений было зафиксировано при 100 мг/л и имело следующий порядок: корни (139,3 мг/кг) > стебли (33,17 мг/кг) > цветки (32,72 мг/кг) > листья (26,14 мг/кг). Коэффициенты транслокации (табл.4.1) для золота были выше единицы при применении низких концентраций (AuNPs 5 и 10 мг/л) и ниже - при AuNPs 100 мг/л.

Для растений, обработанных растворами CuNPs, была выявлена статистически значимая корреляция между концентрацией меди в растворе и ее содержанием в стеблях и цветках (при $p < 0,005$ $r=0,96$ и $0,87$ соответственно). Максимальное содержание меди было отмечено у растений, поливаемых 50 мг/л CuNPs: 47,85 мг/кг в корнях, 10,89 мг/кг в листьях и 29,33 мг/кг в цветках. Во всем диапазоне исследуемых концентраций (1–100 мг/л) отмечено снижение содержания меди в корневой системе в 1,18–2,20 раза соответственно.

Полив календулы растворами AgNPs привел к переносу серебра во все сегменты растений, но, по сравнению с содержанием в почве, перенос в надземные части был крайне низкий. Рассчитанный коэффициент корреляции r (при $p < 0,005$) составил 0,89 для корневой системы, 0,95 для стеблей, 0,98 для листьев и 0,99 для цветков. При всех примененных концентрациях растворов AgNPs, наибольшее содержание серебра (3,96 мг/кг) было отмечено в цветках, за которыми следовали листья (3,60 мг/кг), корни (0,49 мг/кг) и стебли (0,36 мг/кг) [270].

Значения КБК для всех примененных наночастиц были ниже 1,0 и указывали на достаточно низкий перенос золота, меди и серебра из почвы (табл. 4.2).

Таблица 4.2. Коэффициенты транслокации и биоконцентрации для сегментов календулы, выращенной в почве, обработанной AuNPs, AgNPs и CuNPs.

Концентрация растворов НЧ, мг/л	КБК (Au)			
	Корни	Стебли	Листья	Цветки
1	-	-	-	-
5	0,003	0,010	0,010	0,004
10	0,006	0,009	0,009	0,010
50	0,003	0,003	0,003	0,003
100	0,056	0,013	0,013	0,013
КБК (Ag)				
1	0,0003	0,0005	0,0005	0,0006
5	0,0006	0,0006	0,0006	0,0012

10	0,0001	0,0001	0,0001	0,0003		
50	0,0002	0,0001	0,0001	0,0012		
100	0,0002	0,0001	0,0001	0,0014		
КБК (Cu)						
1	0,43	0,13	0,13	0,59		
5	0,06	0,05	0,05	0,20		
10	0,08	0,05	0,05	0,12		
50	0,07	0,02	0,02	0,04		
100	0,03	0,02	0,02	0,03		
КТ (Au)						
	Стебли/ Корни	Листья/ Стебли	Листья/ Корни	Цветки/ Листья	Цветки/ Стебли	Цветки/ Корни
1	-	-	-	-	-	-
5	3,57	0,41	1,47	1,56	0,44	1,56
10	1,49	4,00	5,98	1,61	1,08	1,61
50	0,87	8,48	7,36	0,93	1,07	0,93
100	0,24	0,79	0,19	0,23	0,99	0,23
КТ (Ag)						
1	1,46	1,67	2,43	1,92	1,32	1,92
5	1,00	2,52	2,52	1,91	1,91	1,91
10	0,39	3,72	1,47	1,88	4,78	1,88
50	0,47	8,26	3,90	7,22	15,29	7,22
100	0,75	9,83	7,35	8,09	10,83	8,09
КТ (Cu)						
1	0,30	1,41	0,43	1,39	4,58	1,39
5	0,78	1,34	1,05	3,32	4,23	3,32
10	0,62	1,54	0,95	1,47	2,38	1,47
50	0,26	0,89	0,23	0,61	2,40	0,61
	0,51	0,57	0,29	0,89	1,75	0,89

Наши опыты показали, что накопление меди в корневой системе календулы *Calendula officinalis* L. было сопоставимо с накоплением меди в корнях петрушки *Petroselinum crispum* Mill. [261], однако перенос в надземную часть различался. В растениях петрушки медь практически не транспортировалась в листья, однако у календулы было

отмечено увеличение содержания меди как в листьях, так и в цветках по сравнению с контролем. Hong и соавторы [67] показали дозозависимое увеличение массовой доли меди в корнях и побегах люцерны и салата, выращенных гидропонным методом, при воздействии наночастиц на основе меди.

В ряде исследований было отмечено, что основное накопление серебра имело место в корневой системе [292,293]. Так, для растений горчицы (*Brassica* sp.) была продемонстрирована выраженная локализация серебра в корнях и его ограниченный транспорт в надземные части растений [292]. Согласно данным Kaveh и соавторов [293] содержание серебра в корнях *Arabidopsis thaliana* напрямую зависело от концентрации наночастиц в растворе, в то время как в листьях связь прослеживалась слабее. Авторы также пришли к выводу о преимущественной аккумуляции серебра в корневой системе, где его содержание на порядок превышало листовые показатели [293].

Было отмечено, что золото активно аккумулируется в корневой системе различных видов растений, однако способность к транслокации наночастиц в надземные части демонстрирует выраженную видоспецифичность. Результаты, полученные при орошении растений *Calendula officinalis* L. растворами AuNPs сопоставимы с нашими данными полученными для *Petroselinum crispum* Mill. [261] и *Mentha spicata* L. [269], где золото также было обнаружено как в корнях, так и в надземной биомассе. Согласно работе Zhu и соавторов [204] наночастицы золота (6–10 нм) были обнаружены в побегах риса (*Oryza sativa*), но отсутствовали в побегах редиса (*Raphanus raphanistrum*) и тыквы (*Cucurbita pepo*). Так, у картофеля наночастицы золота хоть и были определены в корнях, стеблях и листьях, их основная доля оставалась в почве [262].

Предполагается, что различия в накоплении наночастиц могут быть обусловлены как видовой специфичностью реакций растений, так и условиями проведения экспериментов (например, их продолжительностью) [67]. Сравнительный анализ показал, что накопление наночастиц в сегментах растений снижалось в следующем ряду: медь > серебро > золото в корнях, медь > золото > серебро в стеблях, листьях и цветках. Так же было отмечено, что листья активно аккумулируют золото, а цветки - медь, указывая на избирательное распределение металлов в сегментах *Calendula officinalis* L.

4.2. Внесение наночастиц методом опрыскивания

4.2.1. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на биохимический статус растений

Эксперимент по листовому воздействию НЧ металлов (AuNPs, AgNPs, CuNPs) на растения *Calendula officinalis* L. позволил оценить их влияние на фотосинтетические пигменты и выявить специфику ответных реакций. Было установлено, что все

исследованные наночастицы оказывали дозозависимое влияние на содержание фотосинтетических пигментов, причем характер и выраженность эффектов варьировали в зависимости от типа НЧ и применяемой концентрации.

Для хлорофилла была характерна сходная реакция на AgNPs и CuNPs: низкие концентрации (1–10 мг/л) стимулировали его выработку или не оказывали значимого влияния, тогда как высокие (50–100 мг/л) вызывали угнетение. Наибольший стимулирующий эффект наблюдался при концентрации CuNPs 1 мг/л, вызывая увеличение содержания хлорофилла на 21,58% по сравнению с контролем. При обработке AgNPs увеличение содержания хлорофилла на 3,97% было характерно для минимальной использованной концентрации 1 мг/л (рис.4.8). Однако для AuNPs было отмечено дозозависимое снижение содержания на 6,29-50,55% относительно контроля.

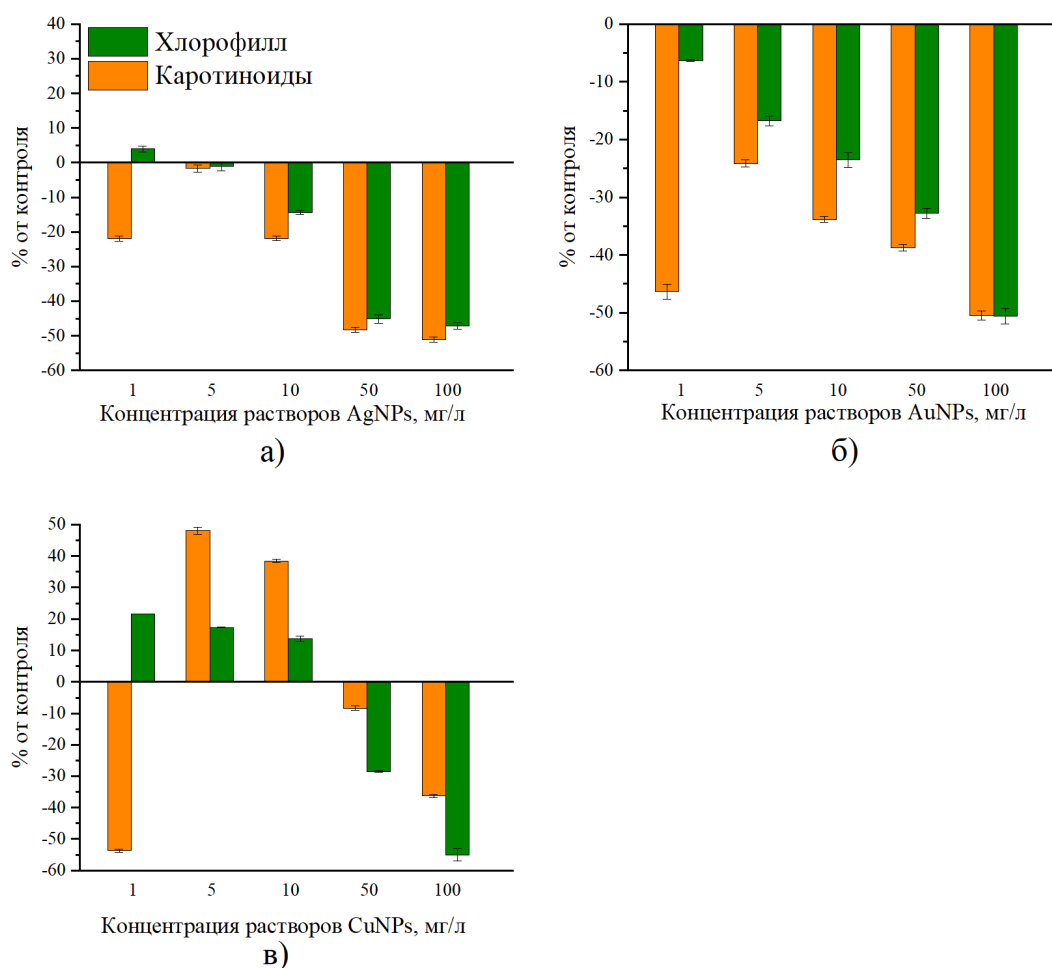


Рисунок 4.8. Изменение содержания хлорофилла и каротиноидов в листьях календулы, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

Содержание каротиноидов в листьях значительно изменилось под действием растворов AuNPs, AgNPs, CuNPs. Обработка AuNPs и AgNPs вызывали снижение содержания при всех испытанных концентрациях, вызывая снижение на 24,13-50,45% и

1,71- 51,16% соответственно. Напротив, CuNPs в концентрациях 5–10 мг/л стимулировали синтез каротиноидов, с максимальным приростом в 48,02% при концентрации 5 мг/л. Однако CuNPs 50-100 мг/л оказывали угнетающее действие со снижением на 8,3-36,3% относительно контроля, соответственно. Листовая обработка CuNPs 1 мг/л привела к максимальному снижению содержания каротиноидов 53,69% относительно контрольной группы.

Антиоксидантная активность по тестам ABTS и DPPH под действием AuNPs увеличивалась во всем диапазоне концентраций 1-100 мг/л, в то время как содержание фенольных соединений либо оставалось на уровне контроля, либо снижалось. Наибольшее увеличение антиоксидантной активности было отмечено при концентрации AuNPs 50 мг/л (на 85,2% по тесту ABTS и на 68,4% по тесту DPPH). AgNPs в большинстве случаев индуцировали рост антиоксидантной активности (рис.4.9).

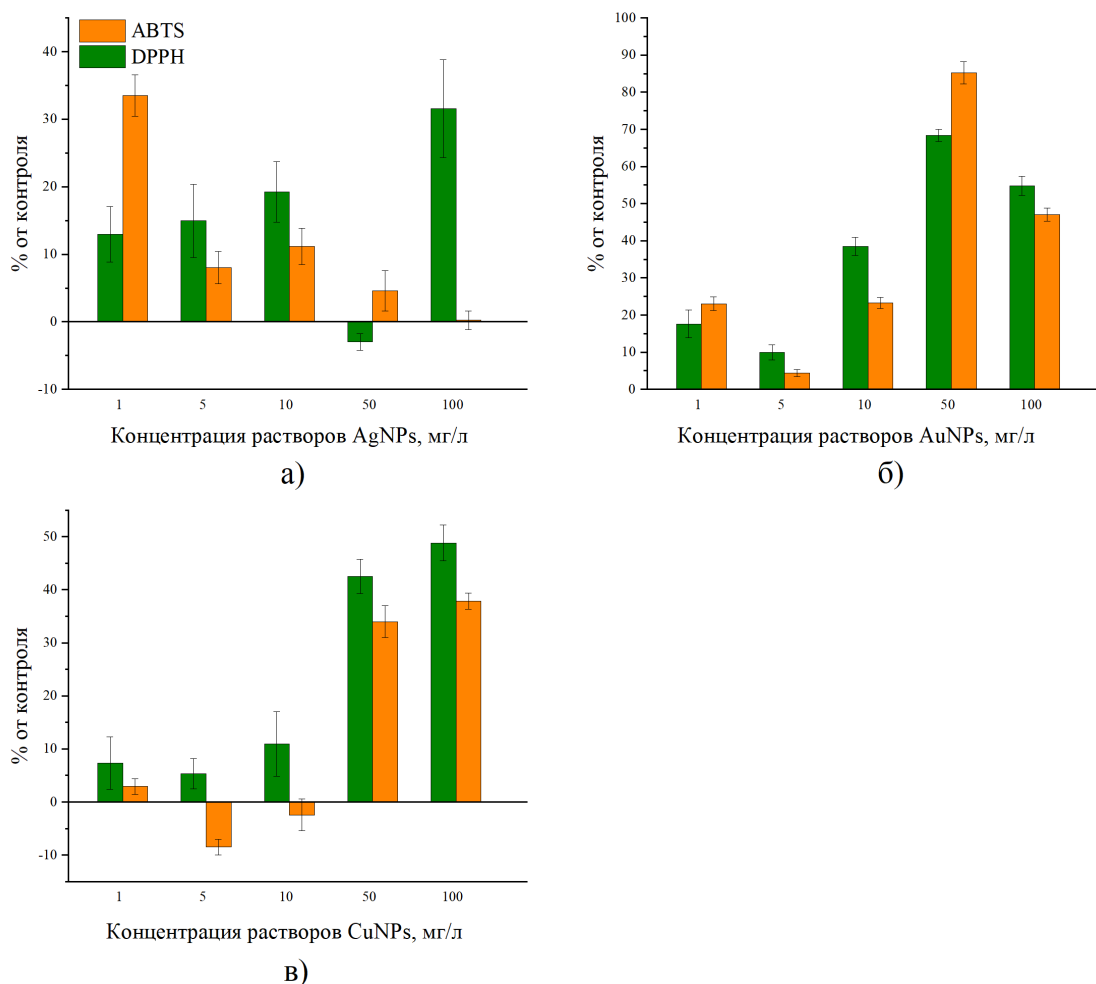


Рисунок 4.9. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из листьев календулы, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

Содержание фенолов при этом увеличивалось на 21,8 и 20,7% по сравнению с контролем при низких концентрациях (1 и 5 мг/л соответственно), но снижалось при

высоких. Для медных наночастиц антиоксидантная активность в листьях показала значительные изменения только при концентрациях 50 и 100 мг/л, где она заметно увеличивалась на 33,9 и 37,8% по сравнению с необработанными НЧ растениями. Напротив, содержание фенольных соединений снижалось при низких концентрациях CuNPs (на 19,05-27,6% при 1-10 мг/л соответственно) и оставалось на уровне контроля при более высоких концентрациях (рис. 4.10). Схожее поведение меди, серебра золота было отмечено при листовой обработке *Petroselinum crispum* (Mill.) наночастицами CuNPs и AuNPs [282] и *Mentha spicata* L. AgNPs[294].

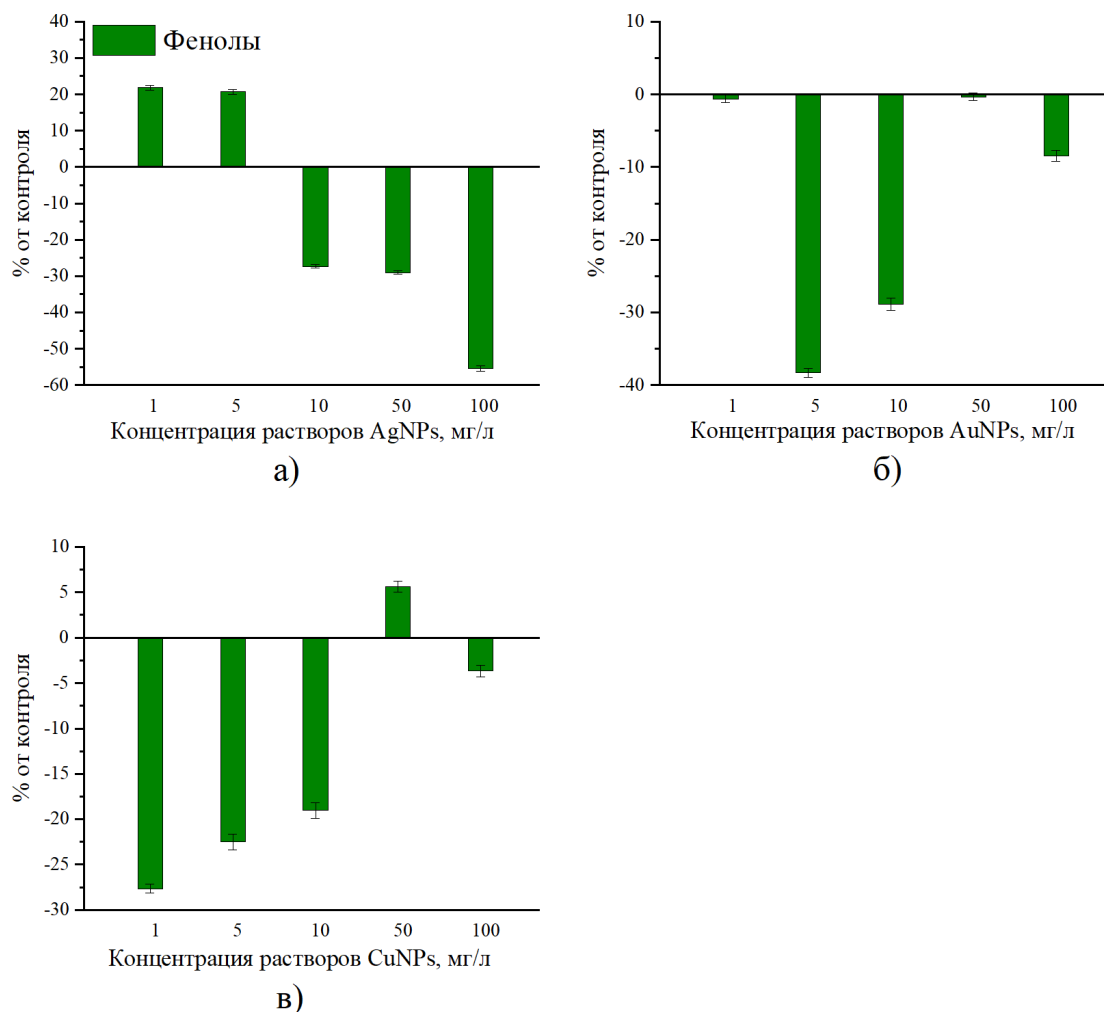


Рисунок 4.10. Изменение содержания фенолов в экстрактах, полученных из листьев календулы, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

Листовая обработка растений растворами AgNPs и AuNPs индуцировала увеличение содержания МДА в диапазоне 15,0–37,1% и 7,6–17,5% соответственно относительно контрольной группы (рис.4.11). Совокупный рост уровня МДА и повышение активности антиоксидантной системы свидетельствует о развитии в растительных тканях выраженного окислительного стресса, при этом наблюдаемая активация антиоксидантной системы указывает на активную адаптивную реакцию растений. Применение CuNPs в низких

концентрациях не повлияла на содержание МДА в листьях календулы, а растворы 50-100 мг/л повысили МДА на 6,6-16,0%. При одновременном увеличении антиоксидантной активности и содержания пигментов это говорит о развитии умеренного окислительного стресса, который эффективно компенсируется активированными защитными системами растения.

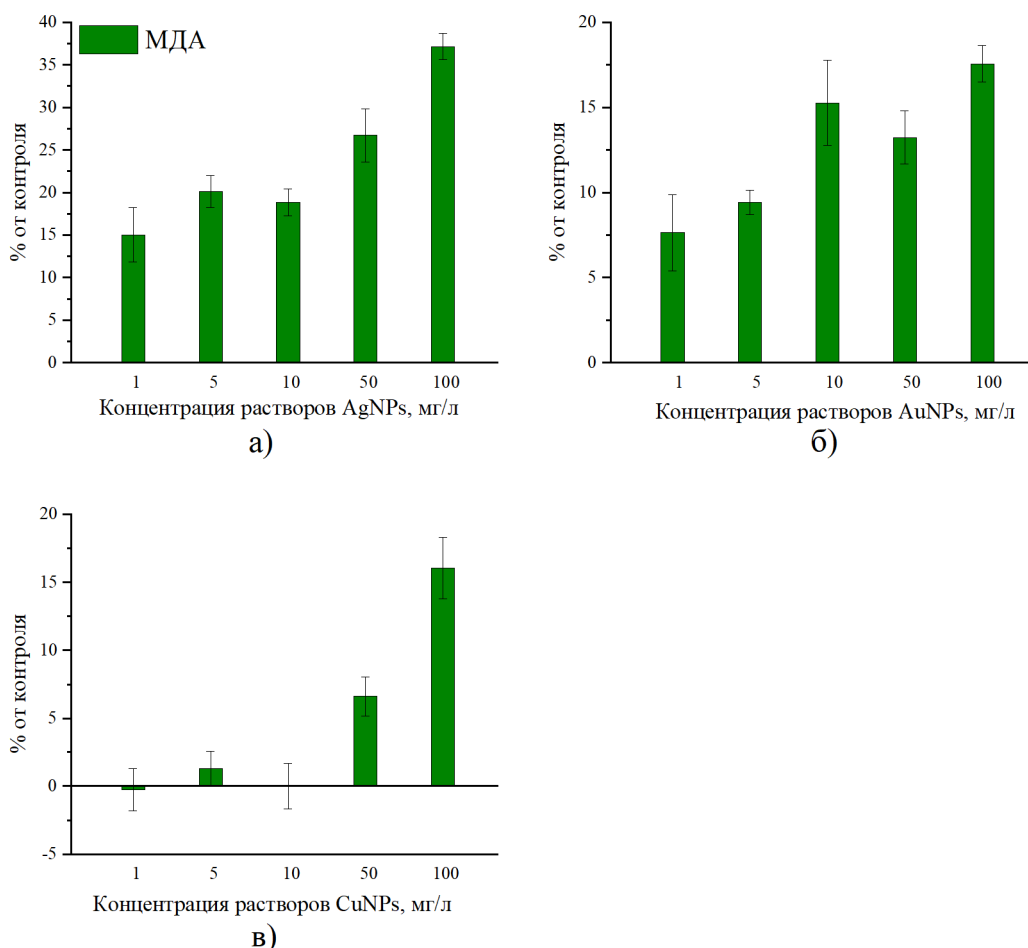


Рисунок 4.11. Измерение содержание малонового диальдегида в листьях календулы в условиях листовой обработки (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

4.2.2. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на накопление серебра, золота и меди в почве и сегментах *Calendula officinalis* L

При листовом воздействии AgNPs и AuNPs на *Calendula officinalis* L., содержание серебра и золота в почве значительно превысило контрольные значения и составило от 0,298 до 1,05 мг/кг и от 0,05 до 0,137 мг/кг соответственно. Факт обнаружения этих металлов в ризосфере подтверждает их способность к транслокации из листьев в корни и последующему выделению в почву [207]. Также было выявлено, что при обработке 1-100 мг/л CuNPs, содержание меди в почве снизилось в 2,7-7,7 раз по сравнению с контролем, причем максимальное снижение было зафиксировано при обработке раствором CuNPs в концентрации 50 мг/л (рис.4.12).

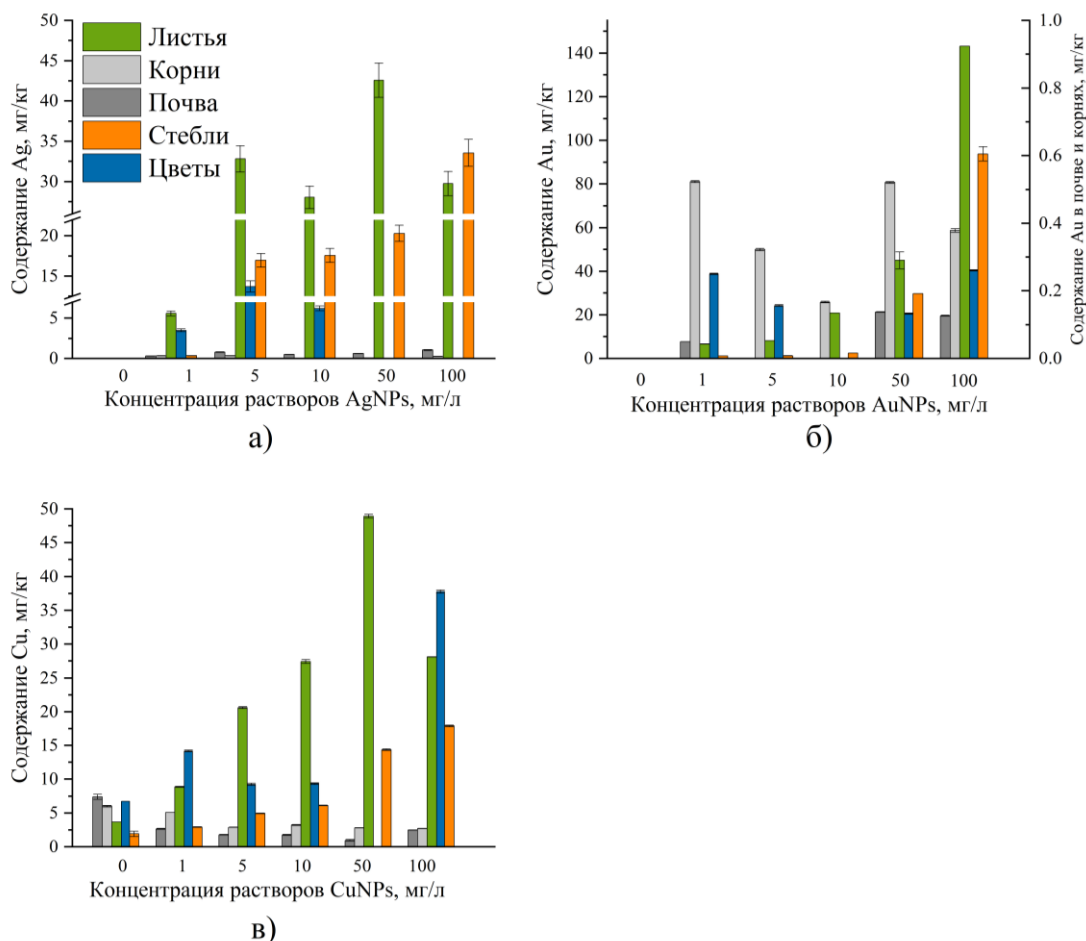


Рисунок 4.12. Содержание серебра, золота и меди в почве и сегментах календулы, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.

Накопление металлов в корнях продемонстрировало зависимость как от типа НЧ, так и от их концентрации. В случае меди наблюдалось снижение ее содержания в корневой системе относительно контроля по мере увеличения концентрации CuNPs в растворе. Для золота и серебра картина была иной: при низких концентрациях (1–10 мг/л) содержание этих металлов в корнях также уменьшалось, тогда как при высоких (50–100 мг/л) происходило их активное накопление (стоит отметить, что в контрольных образцах содержание серебра находилось ниже предела обнаружения). При этом, накопление золота в корнях и почве было минимальным (<1 мг/кг) по сравнению с надземными частями.

Накопление золота, серебра и меди в надземной биомассе календулы варьировало в зависимости от типа применяемых НЧ, в листьях было отмечено наибольшее содержание по сравнению с другими сегментами. Максимальное содержание меди и серебра (48,93 и 42,58 мг/кг соответственно) было определено в листьях растений, обработанных растворами, с концентрацией НЧ 50 мг/л. В то же время, максимальное накопление золота (143,24 мг/кг) было достигнуто при 100 мг/л.

Накопление исследуемых металлов в стеблях можно представить в виде ряда $Au > Ag > Cu$ при применении растворов в концентрации НЧ 50 и 100 мг/л, а при 5-10 мг/л $Ag > Cu > Au$.

Анализ распределения золота в сегментах календулы выявил прямую зависимость между концентрацией AuNPs в растворах, используемых для листовой обработки и содержанием золота в стеблях и листьях (коэффициент корреляции $r = 0,99$ при $p < 0,05$). При этом для цветков не было отмечено статистически значимой корреляции ($r = 0,51$ и $0,54$ относительно стеблей и листьев соответственно). Коэффициент транслокации КТ в системе корни-стебли-листья был меньше единицы для всех примененных концентраций AuNPs.

После опрыскивания календулы AgNPs, серебро аккумулировалось в листьях и стеблях, достигая максимальных значений 42,6 мг/кг (при обработке AgNPs 50 мг/л) и 33,5 мг/кг (при 100 мг/л) соответственно, завися от концентрации растворов AgNPs (для листьев $r = 0,85$, для стеблей $r = 0,80$; $p < 0,05$). Коэффициенты КТ превышали единицу в системе стебли-цветки (КТ 1,24 и 2,82 при 5 и 10 мг/л AgNPs соответственно) и листья-цветки (КТ 1,6-4,5 при 1-10 мг/л AgNPs), увеличиваясь пропорционально увеличению концентрации AgNPs.

Одним из выраженных физиологических эффектов обработки AgNPs явилось ингибирование развития растений. Так, при концентрациях 50 и 100 мг/л процесс бутонизации полностью подавлялся, цветение не наступало. Как сообщалось ранее, наночастицы серебра, проникая в ткани, способны индуцировать окислительный стресс, нарушая баланс между генерацией активных форм кислорода (АФК) и работой антиоксидантной системы, что приводит к подавлению ростовых процессов, нарушениям фотосинтеза, минерального питания и водного обмена [295–297]. Известно, что НЧ могут проникать в растения через устьица, трещины или водные поры, ионные каналы, белки-переносчики, трихомы и путем эндоцитоза [120]. Попадая в ткани, они способны вызывать механические повреждения, закупоривать устьица, индуцировать окислительный стресс за счет генерации активных форм кислорода (АФК) и нарушать клеточный метаболизм. Дополнительный токсический эффект также может быть связан с растворением наночастиц и высвобождением ионов металлов [120,298,299].

Во всех случаях обработки календулы CuNPs, содержание меди в корневой системе снижалось в 1,18-2,2 раза по сравнению с контролем. При этом, в листьях содержание меди увеличивалось пропорционально концентрации наночастиц в диапазоне 1–50 мг/л, достигая максимума 48,93 мг/кг, однако при 100 мг/л наблюдалось снижение до 28,1 мг/кг ($r = 0,57$ при $p < 0,05$). Прямо пропорциональное увеличение содержания меди в стеблях было

зафиксировано при увеличении концентрации CuNPs в растворе ($r = 0,95$ при $p < 0,05$). Коэффициент $KT > 1$ был отмечен только в системе листья-цветки (KT 2,2 и 2,9 при концентрациях наночастиц меди 5 и 10 мг/л).

Результаты, полученные при опрыскивании *Calendula officinalis* L. растворами НЧ, согласуются с данными, полученными для других видов растений, и подтверждают способность наночастиц к транслокации после листовой обработки. Например, опрыскивание побегов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) растворами AgNPs привело к накоплению серебра не только в листьях, но и в клубнях, причем распределение зависело от концентрации: высокие дозы способствовали аккумуляции в молодых листьях, а низкие в зрелых [300].

Аналогичная тенденция активного накопления в надземных органах характерна и для наночастиц меди. Согласно литературным данным, CuONPs преимущественно аккумулируются в листьях, в то время как их транспорт в корневую систему остается ограниченным [278,284]. Это подтверждается, в частности, результатами эксперимента с салатом (*Lactuca sativa* L. var. *ramosa* Hort.), где после обработки содержание меди в листьях достигало 6350 мг/кг, что на порядок превышало ее содержание в корнях (до 525 мг/кг) [301].

Результаты, полученные для *Calendula officinalis* L., согласуются с нашими данными по другим видам, таким как *Petroselinum crispum* (Mill.) и *Mentha spicata* L., где также наблюдалась не только транслокация золота и серебра в корневую систему [269,282,294], но и их выведение в ризосферную часть почвы. Как известно, корневые экссудаты играют важную роль в формировании микробных сообществ почвы [302], поэтому выделение НЧ корневой системой, особенно обладающих антимикробными свойствами (Ag, Cu), требует дальнейшего изучения.

4.3. Оценка рисков для здоровья человека, связанных с употреблением растительного отвара из цветков *Calendula officinalis* L., обработанной AuNPs, AgNPs и CuNPs

Поскольку высушенные соцветия *Calendula officinalis* L. широко применяются в фитотерапии для приготовления растительных настоев, была проведена оценка риска переноса золота, серебра и меди из растений, подверженных обработке растворами AuNPs, AgNPs, CuNPs. Календула ценится за ее фармакологические свойства, регулярный прием травяных настоев способствует поддержанию функций желудочно-кишечного тракта, повышению иммунитета и улучшению состояния кожи. Согласно информации производителей растительного сырья («Родные травы», «Алтайрост» и др.) стандартная разовая доза для приготовления настоя составляет 1,5 г сырья на 300 мл воды, что

соответствует суточному объему потребления. Терапевтический курс, как правило, длится 3–4 недели с последующим перерывом. Для расчетов ОСД и КО была использована модель регулярного применения, где общая продолжительность приема в течение года принята равной 122 дням, что соответствует нескольким последовательным курсам (табл.4.3).

Таблица 4.3. Расчетные значения ОСД и КО, рассчитанный при употреблении настоя, приготовленного из цветков календулы, обработанных AgNPs, AuNPs и CuNPs прикорневым и листовым способами.

		ОСД		КО	
Концентрация растворов НЧ, мг/л		Корневое орошение	Листовое внесение	Корневое орошение	Листовое внесение
AuNPs	0	-		-	
	1	-	$2,90 \times 10^{-4}$	-	$2,20 \times 10^{-1}$
	5	$8,35 \times 10^{-6}$	$1,82 \times 10^{-4}$	$6,33 \times 10^{-3}$	$1,38 \times 10^{-1}$
	10	$2,16 \times 10^{-5}$	-	$1,64 \times 10^{-2}$	-
	50	$2,25 \times 10^{-5}$	$1,54 \times 10^{-4}$	$1,71 \times 10^{-2}$	$1,17 \times 10^{-1}$
	100	$2,45 \times 10^{-4}$	$3,03 \times 10^{-4}$	$1,86 \times 10^{-1}$	$2,30 \times 10^{-1}$
CuNPs	0	$3,46 \times 10^{-5}$		$8,65 \times 10^{-4}$	
	1	$4,83 \times 10^{-5}$	$7,29 \times 10^{-5}$	$1,21 \times 10^{-3}$	$1,82 \times 10^{-3}$
	5	$7,33 \times 10^{-5}$	$4,75 \times 10^{-5}$	$1,83 \times 10^{-3}$	$1,19 \times 10^{-3}$
	10	$7,79 \times 10^{-5}$	$4,80 \times 10^{-5}$	$1,95 \times 10^{-3}$	$1,20 \times 10^{-3}$
	50	$1,51 \times 10^{-4}$	-	$3,77 \times 10^{-3}$	-
	100	$1,45 \times 10^{-4}$	$1,94 \times 10^{-4}$	$3,62 \times 10^{-3}$	$4,86 \times 10^{-3}$
AgNPs	0	-		-	
	1	$5,53 \times 10^{-7}$	$2,09 \times 10^{-5}$	$1,11 \times 10^{-4}$	$4,17 \times 10^{-3}$
	5	$1,17 \times 10^{-6}$	$8,23 \times 10^{-5}$	$2,34 \times 10^{-4}$	$1,65 \times 10^{-2}$
	10	$3,27 \times 10^{-6}$	$3,73 \times 10^{-5}$	$6,54 \times 10^{-4}$	$7,46 \times 10^{-3}$
	50	$1,32 \times 10^{-5}$	-	$2,63 \times 10^{-3}$	-
	100	$2,38 \times 10^{-5}$	-	$4,76 \times 10^{-3}$	-

Продолжительность воздействия 30 лет принято для средней массы человека 70 кг. Согласно результатам исследований [269,271], коэффициент экстракции золота, серебра и меди при заваривании варьирует в зависимости от типа НЧ. Для проведения расчетов были

использованы среднестатистические значения эффективности экстракции: для меди - 24%, для золота - 35%, для серебра - 28%.

Полученные значения ОСД и КО, во всех вариантах обработки *Calendula officinalis* L. AuNPs, AgNPs и CuNPs не превышают единицу. Таким образом, настои из соцветий календулы, выращенной даже с применением НЧ в изученных концентрациях, являются безопасными для здоровья при курсовом пероральном применении в соответствии с рекомендованными нормами. Риск хронического токсического воздействия золота, серебра и меди, которые могут потенциально мигрировать из сырья в напиток, отсутствует.

4.4. Выводы к Главе 4

1. Установлено, что при прикорневом внесении растворов AgNPs, AuNPs и CuNPs основная часть металлов аккумулируется в почвенном субстрате и корневой системе *Calendula officinalis* L., причем уровень их накопления возрастает с увеличением концентрации растворов. При листовой обработке поступление наночастиц в почву ограничено, однако возможно их частичное накопление в ризосферной зоне вследствие обратной транслокации из надземных органов растений.

2. При внесении AgNPs, AuNPs, CuNPs в прикорневую часть *Calendula officinalis* L. наблюдается избирательный перенос и аккумуляция золота, серебра и меди в сегментах растения. Распределение золота, серебра и меди по сегментам растений зависело как от типа, так и концентрации наночастиц. Наибольшее накопление в корнях было отмечено для серебра, в листьях - для золота, а в цветках - для меди.

3. Прикорневая обработка НЧ вызвала активацию защитных систем растения, что проявлялось в увеличении антиоксидантной активности. Низкие концентрации (1-10 мг/л) AgNPs, AuNPs и CuNPs оказывали стимулирующее действие на содержание фотосинтетических пигментов, однако при применении более высоких концентраций (AuNPs и CuNPs 50-100 мг/л) этот эффект снижался. Исключение составили AgNPs, которые сохраняли стимулирующее действие на накоплении хлорофилла и каротиноидов даже при самых высоких концентрациях. Несмотря на высокое содержание пигментов и повышенную антиоксидантную активность, AgNPs вызывали различные нарушения развития растений, такие как ингибирование цветения, скручивание стеблей и листьев, а также снижение высоты растений.

4. Листовая обработка *Calendula officinalis* L. AgNPs, AuNPs, CuNPs в диапазоне концентраций 1-100 мг/л привела к активному накоплению золота, серебра и меди в надземных частях. Было отмечено дозозависимое снижение содержания меди в почве и корневой системе при нанесении CuNPs, в то время как внесение AuNPs и AgNPs

значительно не повлияли на содержание металлов в корневой системе по сравнению с контролем.

5. Фотосинтетическая система растений на листовую обработку НЧ реагировала по-разному. Применение низких концентраций (1-10 мг/л) AgNPs, AuNPs, CuNPs увеличивало содержание общего хлорофилла, в то время как высокие концентрации растворов (50-100 мг/л) подавляли его накопление. Изменение содержания каротиноидов зависело от типа НЧ. Так, AuNPs и AgNPs вызывали дозозависимое снижение содержания во всем диапазоне концентраций, тогда как CuNPs в диапазоне концентраций 1-10 мг/л выступали в роли стимулятора. Более высокие концентрации CuNPs оказывали ингибирующее действие.

6. Оценка активности почвенной микробиоты позволяет сделать вывод, что наночастицы серебра и меди обладают выраженным ингибирующим действием на почвенные микробные сообщества. AuNPs вызывали кратковременную стимуляцию активности микробных сообществ (наблюдаемую на 7-е сутки инкубации), однако в долгосрочной перспективе (к 30-м суткам) эффект изменялся на противоположный и сопровождался снижением активности почвенной микробиоты. К концу инкубационного периода эффекты от применения AuNPs и CuNPs были сопоставимы, и выражались в снижении скорости почвенного дыхания на 30% и 38% соответственно. Таким образом, высокое содержание золота, серебра и меди в почве оказывает негативное влияние на микробиологические процессы.

Представленные в данной главе результаты и выводы были опубликованы в рецензируемых журналах, индексируемых в WoS и Scopus [270,303].

5. ВЛИЯНИЕ МЕТОДА ВНЕСЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ *MENTHA SPICATA* L., МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА И НАКОПИТЕЛЬНУЮ СПОСОБНОСТЬ РАСТЕНИЙ.

5.1. Внесение наночастиц методом полива

Для оценки фитотоксичности и закономерностей накопления наночастиц металлов были проведены эксперименты, основанные на внесении растворов AuNPs, AgNPs и CuNPs к растениям мяты колосистой (*Mentha spicata* L.). Растения обрабатывали водными суспензиями наночастиц в концентрациях 1, 5, 10, 50 и 100 мг/л каждые 48 часов в течение 28 суток двумя независимыми способами: прикорневым орошением (20 мл на растение) и опрыскиванием листовой поверхности (2 мл на растение).

По окончании экспериментов растения аккуратно извлекали и разделяли на сегменты (корни, стебли и листья), промывали, высушивали и измельчали для последующей пробоподготовки и анализа методом нейтронно-активационного анализа с k0-стандартизацией (k0-НАА), атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-ОЭС) и атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС) согласно методикам, описанной в разделе 2.6. Параллельно с каждого растения отбирали свежую биомассу для проведения биохимических анализов.

5.1.1. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на биохимический статус растений

Прикорневая обработка мяты растворами AuNPs в диапазоне концентрация 1-100 мг/л оказала влияние на содержание каротиноидов в листьях. Наибольший стимулирующий эффект наблюдался при минимальной (1 мг/л) и максимальной (100 мг/л) концентрациях, вызывая увеличение содержания пигмента на 24,9% ($p < 0,05$) и 29,9% ($p < 0,05$), соответственно по сравнению с контролем. Концентрация 10 мг/л приводила к незначительному снижению уровня каротиноидов на 8,6% ($p < 0,05$), а наиболее выраженное ингибирующее действие было зафиксировано при AuNPs 50 мг/л, где содержание каротиноидов снизилось на 41,5% ($p < 0,001$) по отношению к контролю (рис.5.1).

Стимулирующий эффект на содержание хлорофилла в листьях оказала только минимальная концентрация AuNPs (1 мг/л), вызывая увеличение на 24,5% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. При концентрации AuNPs 5 мг/л уровень хлорофилла статистически не отличался от контрольных значений, однако дальнейшее увеличение концентрации AuNPs (в диапазоне 10–100 мг/л) приводило к снижению содержания хлорофилла на 14,2–33,5%.

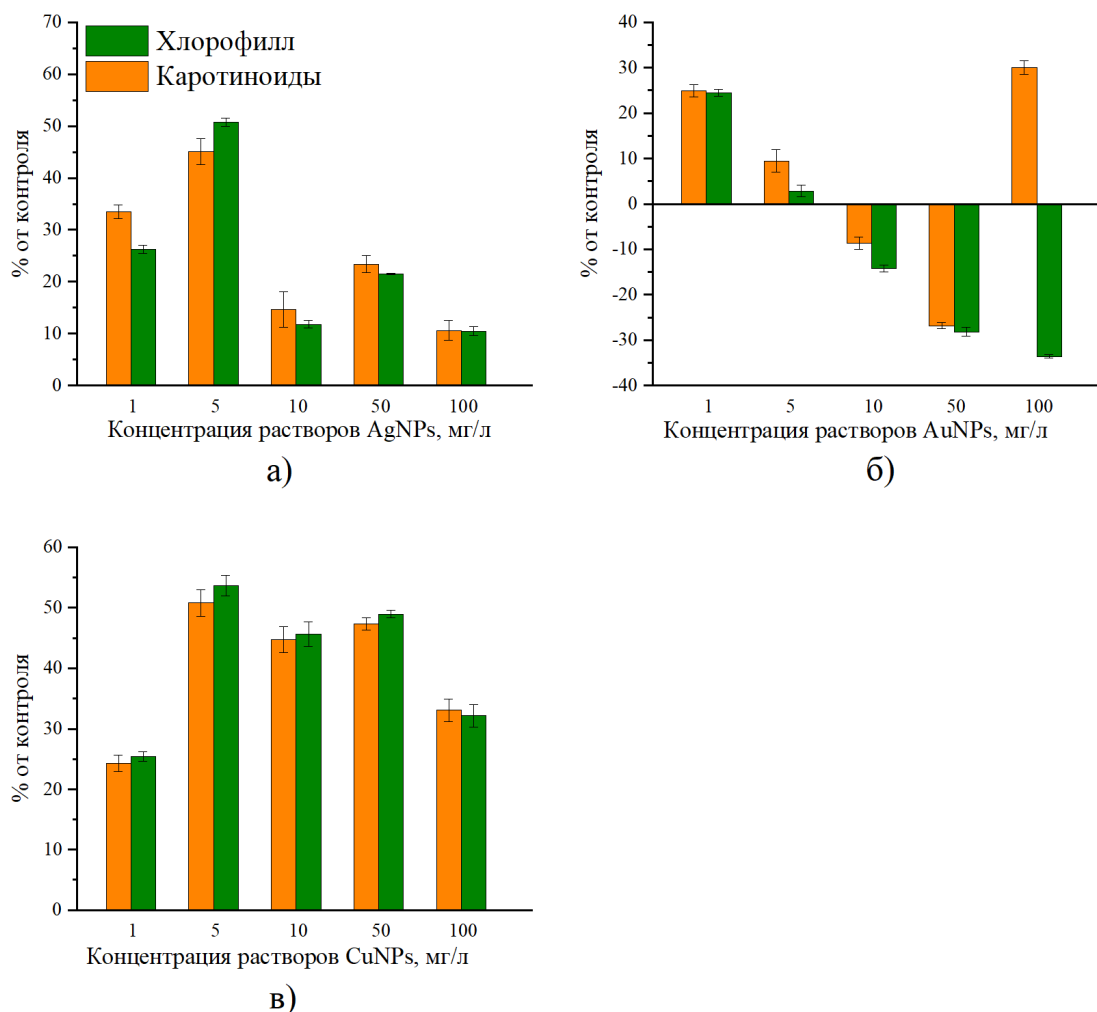


Рисунок 5.1. Изменение содержания каротиноидов и общего хлорофилла в надземных частях мяты колосистой, выращенной в почве, обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

В настоящей работе также были зафиксированы положительные эффекты воздействия AgNPs на содержание фотосинтетических пигментов. Наибольшее увеличение содержания каротиноидов наблюдалось при концентрациях AgNPs 1 мг/л (на 33,7%, $p < 0,05$) и 5 мг/л (на 45%, $p < 0,05$). Применение AgNPs также привело к увеличению содержания хлорофилла в растениях по сравнению с контролем, при этом максимальное стимулирующее действие (увеличение на 50,7%, $p < 0,001$) имело место при концентрации AgNPs 5 мг/л.

Прикорневое орошение растений растворами CuNPs приводило к достоверному увеличению содержания каротиноидов и хлорофилла во всем диапазоне концентраций. Увеличение содержания пигментов в листьях варьировало от 24 % до 51 % ($p < 0,05$) при концентрации CuNPs 1 и 5 мг/л соответственно. Применение растворов с концентрациями 10–100 мг/л обеспечивало прирост на 33–47% ($p < 0,05$). Наибольший стимулирующий эффект наблюдался в диапазоне концентраций 5–50 мг/л, где содержание

фотосинтетических пигментов в листьях возросло до 50% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, увеличение на 25% и 32% было отмечено при применении концентраций 1 и 100 мг/л соответственно.

Обработка мяты раствором AuNPs 1 мг/л путем орошения привела к увеличению антиоксидантной активности по тесту ABTS на 52,9% ($p < 0,001$), в то время как применение более высоких концентраций оказали меньшее влияние (увеличение на 12,6-19,4% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем) (рис. 5.2.).

Результаты, полученные методом DPPH, отличались от данных теста ABTS. Увеличение антиоксидантной активности экстракта (на 16,9% относительно контроля) было зафиксировано только при обработке растений AuNPs в концентрации 10 мг/л. Во всех остальных вариантах обработки AuNPs значимых изменений антиоксидантной активности по тесту DPPH не наблюдалось, за исключением концентрации 100 мг/л, где было зафиксировано ее снижение на 19,4% относительно контроля.

Корневое орошение растворами AgNPs приводили к достоверному увеличению антиоксидантной активности экстрактов, полученных из листьев мяты. Наибольшее увеличение по тесту ABTS (на 41,6%, $p < 0,05$) было зафиксированы при поливе раствором с концентрацией 5 мг/л.

Анализ методом DPPH показал, что большинство вариантов обработки AgNPs приводило к снижению антиоксидантной активности, за исключением AgNPs 50 мг/л, где было зафиксировано увеличение на 8,1% ($p < 0,05$) относительно контроля (рис.5.2). Полив растений растворами CuNPs вызвал выраженное увеличение значений антиоксидантной активности по тесту ABTS на 18-51 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Однако, метод DPPH показал, при концентрациях CuNPs 1–100 мг/л антирадикальная активность экстрактов, полученных из листьев мяты, либо была на уровне контроля, либо снижалась, но не более чем на 13,7% ($p < 0,05$) относительно контроля.

Следует отметить, что различия в полученных результатах обусловлены особенностями механизмов, лежащих в основе каждого метода. Тест ABTS основан на способности антиоксидантов как к донорству электрона, так и атома водорода, что позволяет оценивать активность как гидрофильных, так и липофильных соединений. В то же время метод DPPH преимущественно отражает способность соединений к донорству атома водорода и более чувствителен к определённым классам фенольных антиоксидантов.

Таким образом, увеличение активности по ABTS может свидетельствовать о росте общего редокс-потенциала и накоплении широкого спектра антиоксидантных метаболитов, тогда как снижение показателей по DPPH указывает на возможные изменения качественного состава антиоксидантов или на перераспределение между различными

фракциями соединений. Это подтверждает, что воздействие НЧ модифицирует не только уровень, но и профиль антиоксидантной системы растений, что требует комплексной оценки с использованием нескольких аналитических подходов.

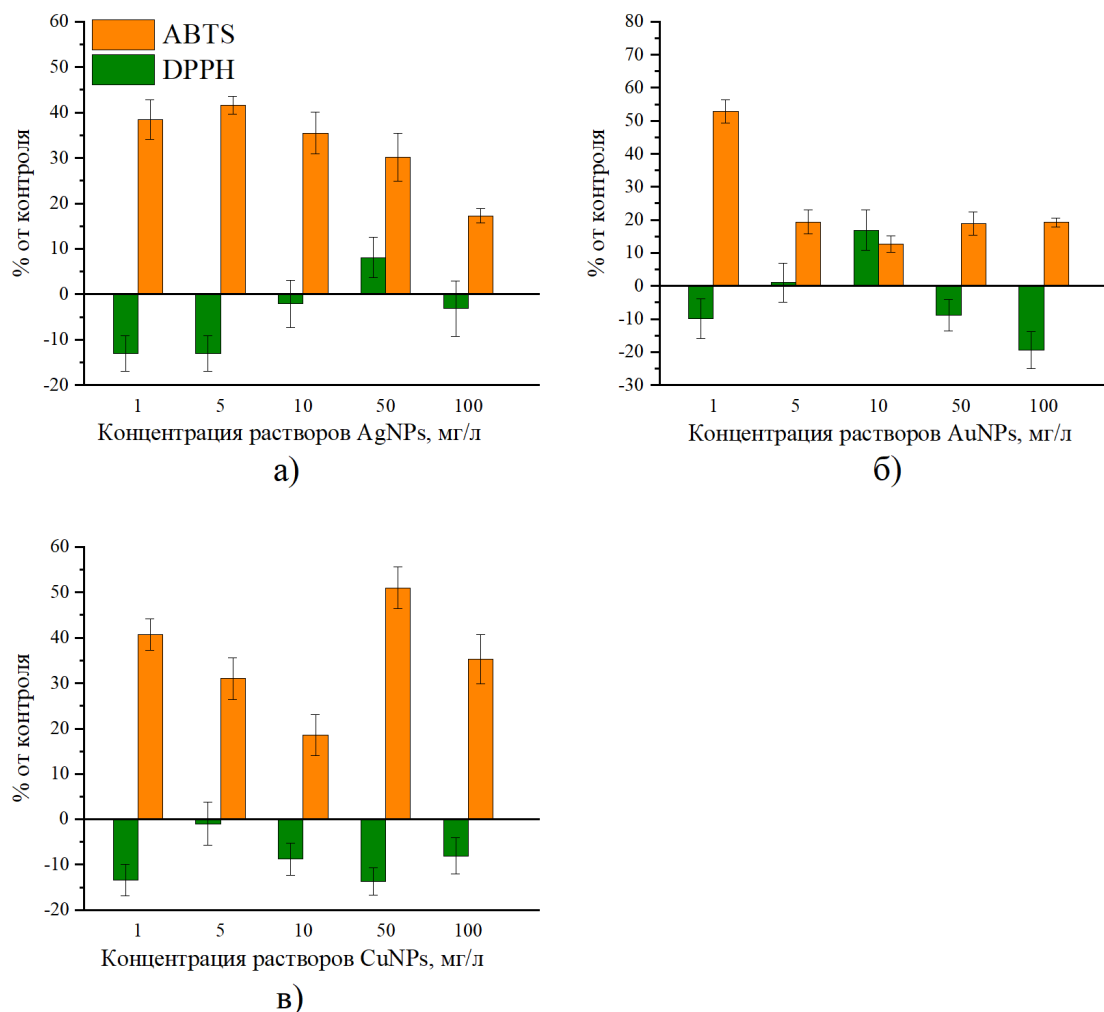


Рисунок 5.2. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из надземных частей мяты колосистой, выращенной в почве, обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

При поливе растений мяты AuNPs в концентрациях 1-10 мг/л содержание МДА в растениях снизилось по сравнению с контролем (на 10–13%), в то время как применение AuNPs в концентрациях 50 и 100 мг/л привело к увеличению содержания МДА на 25,7% и 29,0% соответственно по сравнению с контролем (Рис.5.3).

Орошение растений растворами CuNPs, привело к снижению уровня МДА на 14,4–20,4% по сравнению с контролем. Учитывая, что МДА является ключевым маркером перекисного окисления липидов, его уменьшение, в сочетании с повышением содержания фотосинтетических пигментов и усилением антиоксидантной активности, свидетельствует об эффективной адаптивной реакции растений на воздействие наночастиц. Вероятно, применение CuNPs в данных концентрациях индуцировало активацию антиоксидантной

системы, что позволило ограничить развитие окислительного стресса и стабилизировать функционирование фотосинтетического аппарата.

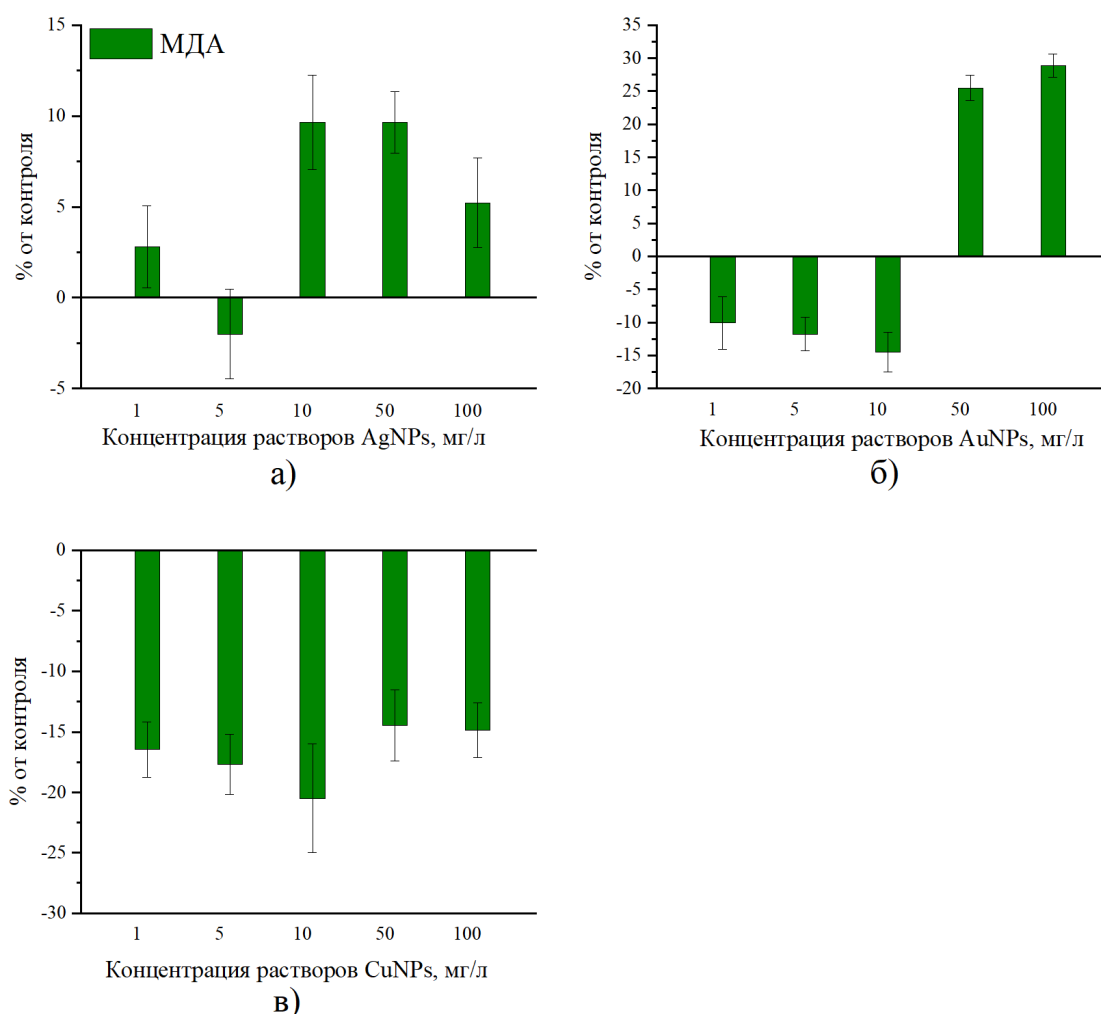


Рисунок 5.3. Изменение содержания малонового диальдегида в экстрактах, полученных из листьев мяты, подверженной обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

Таким образом, полученные результаты указывают не столько на создание внешне более благоприятных условий, сколько на формирование устойчивого физиологического ответа, обеспечивающего сохранение фотосинтетической активности. В то же время обработка AgNPs привело к незначительному снижению уровня МДА при использовании раствора 5 мг/л. В остальных вариантах обработки было отмечено увеличение МДА на 2,8-9,6%.

Рост МДА указывает на наличие окислительного стресса и повреждения мембран, однако увеличение содержания пигментов и антиоксидантов свидетельствует о том, что защитные механизмы растения хорошо функционируют. В то же время существует вероятность, что при увеличении концентрации растворов наночастиц или продолжительности воздействия произойдет ухудшение биохимического статуса растений.

Сопоставление данных, полученных при тесте МДА с изменением других биохимических показателей указывает на то, что AuNPs в концентрациях 50-100 мг/л индуцируют в растении окислительный стресс, который может приводить к деградации пигментов и других биологически активных соединений. Следовательно, такое воздействие потенциально может снижать терапевтическую ценность растительной биомассы, что является важным фактором при оценке рисков и перспектив применения наноматериалов в сельском хозяйстве.

Полученные результаты изменения биохимических параметров сопоставимы с данными других исследований, так, согласно исследованию Joshi и соавторов [304], у *Nardostachys jatamansi*, выращенных в присутствии AuNPs, также наблюдалось увеличение уровня хлорофилла *a* и *b*, каротиноидов, общего хлорофилла, а также антиоксидантной активности. Mezacasa и соавторы [178] показали, что AuNPs взаимодействуют с хлорофиллом и могут изменять работу фотосинтетической системы растений. Было также показано, что обработка AgNPs улучшает соотношение хлорофиллов *a/b* и общее содержание каротиноидов в ананасе [305] и при концентрациях 5 и 10 ppm повышает уровень общего хлорофилла, каротиноидов, флавоноидов, растворимых сахаров и белка в растениях томата [306].

Также, в литературе описывается, что применение наночастиц серебра и меди способствует улучшению показателей сельскохозяйственной продукции, например, Raza и соавторы [307] показали, что применение наночастиц меди значительно влияло на рост и урожайность пшеницы как в нормальных условиях, так и в условиях засухи. Таким образом, применение наночастиц меди может эффективно смягчать засушливый стресс, что приводит к улучшению роста и урожайности пшеницы, особенно в контролируемых условиях [307]. Однако в наших опытах на петрушке, полив растений CuNPs отрицательно повлияла на содержание пигментов и антиоксидантную активность [261].

5.1.2. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на активность почвенной микробиоты

Почва является крупнейшим рецептором для наночастиц, и воздействие зависит от их концентрации, типа почвы и ферментативной активности почвы [168]. Исследование влияния наночастиц на активность дегидрогеназы, уреазы, кислой и щелочной фосфатазы в двух типах почв [170] показало, что в зависимости от исследуемого фермента и типа почвы может наблюдаться ингибирующее или стимулирующее воздействие наночастиц на активность ферментов.

В текущих экспериментах, при орошении почвы AuNPs в концентрации 100 мг/л скорость почвенного дыхания увеличилась на 86% на 7 день инкубации, однако на 30 день было отмечено снижение на 28% по сравнению с контролем. При этом с 7 до 30 дня

активность почвенной микробиоты снизилась на 52%. Этот ингибирующий эффект на микробную активность почвы статистически значим и указывает на потенциальные экологические риски, возникающие в результате накопления наночастиц золота в почве (рис.5.4).

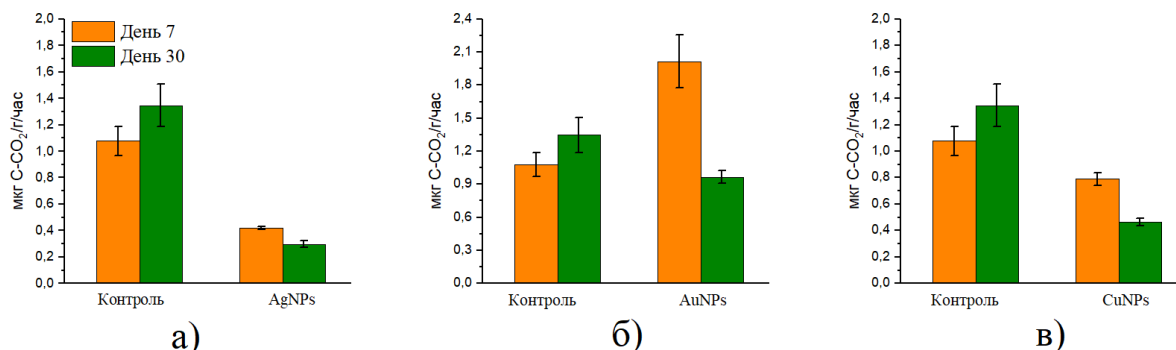


Рисунок 5.4. Изменение скорости дыхания микробиоты в почве, обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.

Согласно исследованию Asadishad и соавторов [272] обработка почв AuNPs с цитратным покрытием привело к снижению относительной численности бактерий типа *Acidobacteria* через 30 дней по сравнению с контролем. В то же время наблюдалось увеличение доли других важных групп почвенных бактерий, включая актинобактерии и протеобактерии. В этом же исследовании была продемонстрирована специфичность воздействия наночастиц: активность большинства почвенных ферментов была достоверно выше в образцах почвы, обработанных AuNPs с цитратным покрытием, по сравнению с образцами, обработанными AuNPs, стабилизированными ПВП. При этом внесение свободного цитрата или ПВП без наночастиц не оказывало статистически значимого влияния на ферментативную активность почв относительно контроля. Это свидетельствует о том, что наблюдаемые эффекты обусловлены действием самих наночастиц, а не стабилизирующих агентов [272].

Таким образом, необходимы дальнейшие исследования характера и масштабов воздействия наночастиц золота на активность почвенной микробиоты, для предотвращения долгосрочных негативных последствий загрязнения, в том числе на здоровье и плодородие почвы.

Подавляющий эффект AgNPs на микробную активность оказался более выраженным по сравнению с действием AuNPs, примененных в той же концентрации и в аналогичных условиях. В контрольном варианте скорость дыхания возросла на 25% в период с 7-го по 30-й день инкубации, стабильно превышая показатели почвы, подверженной обработке

AgNPs 100 мг/л. В варианте с AgNPs к 30-му дню скорость дыхания была на 29% ниже исходного уровня, а к 7 и 30 дню она была в 2,6 и 4,5 раза ниже, чем в контроле.

В аналогичных условиях внесения AgNPs в прикорневую часть *Calendula officinalis* L. наши результаты показали, что активность почвенной микробиоты на 30 день снизилась в 3,7 раза [270]. В других работах также отмечаются подобные изменения. Например отрицательное влияние зарегистрировано для арктических почвенных сообществ при добавлении AgNPs [50]. Было установлено, что биодоступность и токсичность AgNPs для некоторых микроорганизмов (*Escherichia coli*) возрастала с уменьшением размера частиц [308].

В нашем исследовании, при использовании CuNPs 100 мг/л ингибирующий эффект был отмечен в течение всего 30-дневного инкубационного периода. Снижение на 27% и 65% было отмечено на 7-й и 30-й дни соответственно. Между этими двумя временными точками дыхание в образцах, обработанных CuNPs, снизилось на 41%, тогда как в контроле оно увеличилось на 25%. Примечательно, что при поливе *Calendula officinalis* L. CuNPs ингибирование было менее выраженным (38% по сравнению с контролем на 30 день инкубации) [270].

Исследования показали, что CuONPs подавляют ключевые метаболические процессы, так, у сульфатредуцирующей бактерии *Desulfovibrio vulgaris* CuONPs ингибировали экспрессию генов, связанных с дыханием и переносом электронов [52]. А воздействие CuONPs на нитрифицирующие бактерии приводило к угнетению кинетики нитрификации [51].

Эти данные свидетельствуют о том, что Au-, Ag-, Cu-NPs в концентрации 100 мг/л могут оказывать значительное угнетающее действие на микробную активность почвы. Однако степень токсичности, варьирует в зависимости от времени, прошедшего после их применения, и вида растения. В целом, НЧ представляют значительный экологический риск, и необходимы дальнейшие исследования для разработки руководящих принципов их безопасного использования в почвенных системах.

5.1.3. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на накопление серебра, золота и меди в почве и сегментах *Mentha spicata* L.

В условиях орошения мяты растворами AuNPs в диапазоне концентраций 1-100 мг/л была выявлена прямая зависимость между их концентрацией и содержанием золота в почве, корнях и листьях ($r = 0,99, 0,97$ и $0,97$ соответственно при $p < 0,005$). Наибольшая аккумуляция золота была отмечена в корневой системе мяты (2,99–454 мг/кг), по сравнению с листьями (0,12–5,49 мг/кг) и стеблями (0,05–0,52 мг/кг). При этом, в корнях содержание золота увеличивалось по сравнению с контролем при всех примененных

концентрациях наночастиц золота, а стеблях и листьях увеличение наблюдалось только при концентрациях AuNPs 50 и 100 мг/л (рис.5.5).

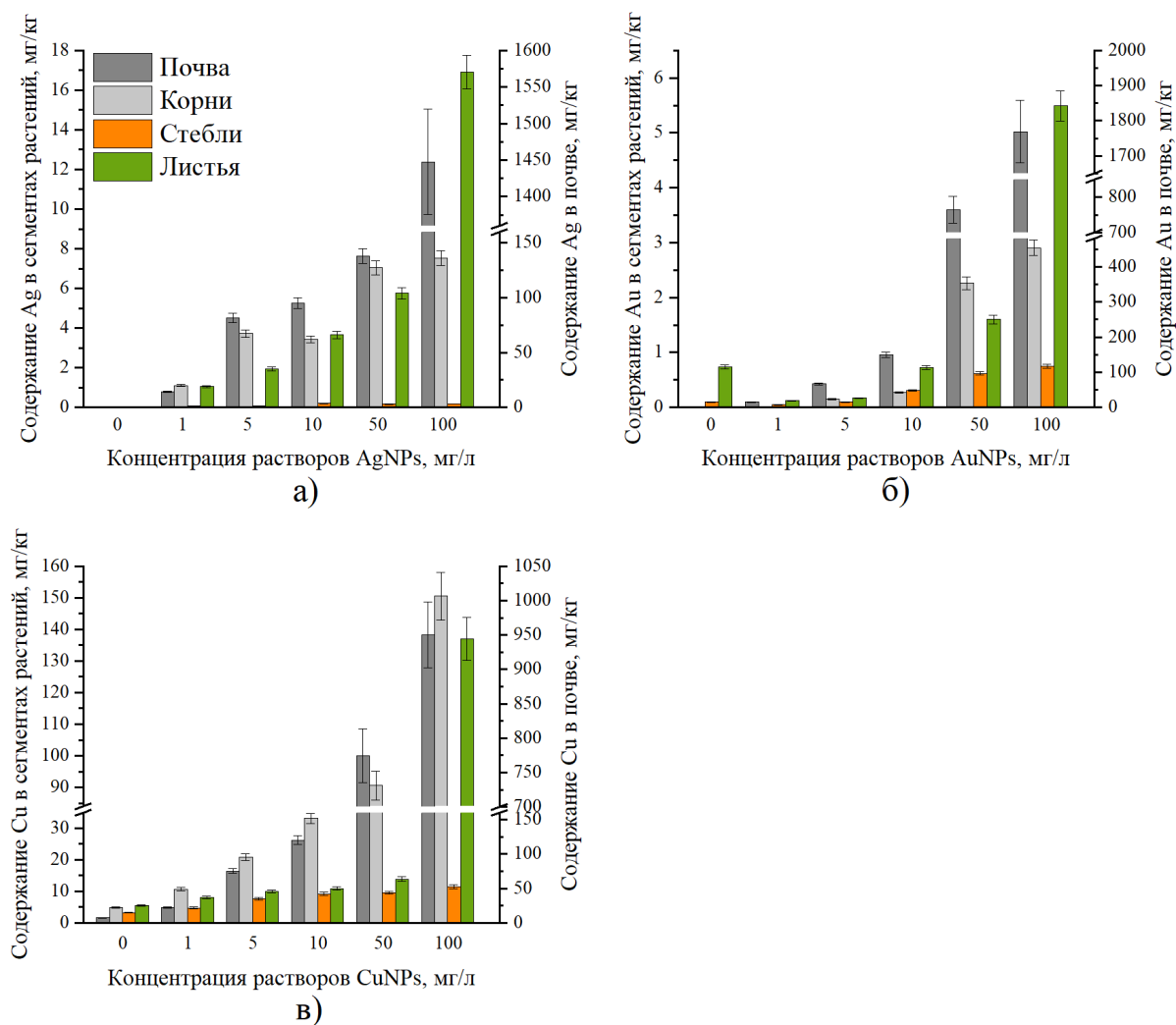


Рисунок 5.5. Содержание серебра, золота и меди в почве и сегментах мяты, выращенной в почве, обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.

Содержание золота в почве, не подверженной воздействию НЧ, составляло 0,09 мг/кг, при этом полив растений растворами AuNPs приводил к дозозависимому увеличению содержания золота в почвенном субстрате. При минимальной испытанной концентрации AuNPs 1 мг/л содержание золота в почве возрастало до 15,2 мг/кг, а при 100 мг/л - достигало 1769 мг/кг. Рассчитанные коэффициенты биологической концентрации были менее 1,0 для всех систем «почва-растение» также как и значения коэффициента транслокации, которые превышали 1,0 только для системы «листья-стебли» (табл.5.1).

Таблица 5.1. Коэффициенты транслокации и биоконцентрации для сегментов мяты, выращенной в почве, обработанной AuNPs

Концентрация AuNPs, мг/л	КБК			КТ		
	Корни	Стебли	Листья	Стебли/ Корни	Листья/ Стебли	Листья/ Корни
1	0,197	0,003	0,008	0,016	2,553	0,040
5	0,353	0,001	0,003	0,004	1,789	0,007
10	0,290	0,002	0,005	0,007	2,323	0,017
50	0,461	0,001	0,002	0,002	2,581	0,005
100	0,257	0,0004	0,003	0,002	7,320	0,012

Прикорневое внесение растворов AgNPs привело к замедлению роста растений по сравнению с контролем, также отмечено изменение формы стеблей и скручивание листьев (Рис.5.6).



Рисунок 5.6. Внешний вид растений *Mentha spicata* L. при корневой обработке раствором AgNPs 5 мг/л.

Накопление серебра в почве коррелировало с его концентрацией в экспериментальных растворах НЧ ($p < 0,005$, $r = 0,91$). При внесении AgNPs в концентрации 1 мг/л содержание элемента в почве достигало 14 мг/кг, что в 361 раз превышало уровень в контрольных образцах. Максимальное накопление - 1447,5 мг/кг было зафиксировано в варианте с концентрацией AgNPs 100 мг/л.

Также была выявлена прямопропорциональная зависимость между содержанием серебра в сегментах мяты и концентрацией в растворе: для корней ($p<0,005$, $r=0,86$) и листьев ($p<0,005$, $r=0,97$). Таким образом, длительное орошение AgNPs способно приводить к существенному загрязнению почвы, создавая риск для почвенной микробиоты и растительных сообществ.

По сравнению с другими сегментами мяты, наименьшее накопление серебра наблюдалось в стеблях (лишь в 2–5 раз превышали контроль). В корневой системе содержание серебра варьировало от 1,09 до 7,51 мг/кг, в листьях - от 1,05 до 16,9 мг/кг. Таким образом, в случае с прикорневым внесением AgNPs в концентрациях 5 и 50 мг/л накопление серебра в системе «почва–растение» уменьшалось следующим образом: почва> корни> листья> стебли. Однако при концентрациях 1, 10 и 100 мг/л последовательность соответствовала ряду: почва> листья> корни> стебли.

Коэффициент биоконцентрации был обратно пропорционален применяемым концентрациям, значения ниже 1,0 были отмечены для всех сегментов растений. Высокий коэффициент транслокации ($KT>1$) был получен для системы стебель-лист, где самое низкое значение 16,80 было рассчитано для 1 мг/л AgNPs, а самое высокое (KT 91,71) — для 100 мг/л AgNPs (табл.5.2).

Таблица 5.2. Коэффициенты транслокации и биоконцентрации для сегментов мяты, выращенной в почве, обработанной AgNPs

Концентрация растворов AgNPs мг/л	КБК			КТ		
	Корни	Стебли	Листья	Стебли/ Корни	Листья/ Стебли	Листья/ Корни
1	0,078	0,0044	0,074	0,057	16,80	0,96
5	0,046	0,0010	0,024	0,022	23,91	0,52
10	0,036	0,0021	0,038	0,059	18,16	1,07
50	0,051	0,0012	0,042	0,023	35,13	0,82
100	0,005	0,0001	0,012	0,025	91,71	2,24

При корневом внесении CuNPs основное накопление меди наблюдалось в почве (максимально 950,20 мг/кг) и корнях растений мяты (максимально 150,5 мг/кг), при этом была выявлена положительная корреляция между концентрацией CuNPs в растворе и содержанием меди как в почве ($r=0,96$, $p<0,005$), так и в корнях ($r=0,99$, $p<0,005$). По сравнению с контролем содержание меди в почве увеличивалось в 3–128 раз, а в корнях - в 2–31 раз. Транслокация меди в сегменты растения также зависела от концентрации НЧ в растворе (табл.5.3).

При обработке 1–100 мг/л CuNPs КТ снижались с 0,44 до 0,08 для системы «корень–стебель» и с 1,7 до 1,18 для системы «стебель–лист». Однако при воздействии на растения концентрациями CuNPs, 50 и 100 мг/л КТ в системе «стебель–лист» увеличился до 1,45 и 11,95 соответственно. Содержание меди в листьях превышало контрольные значения в 1,4–2,5 раза при CuNPs 1–50 мг/л, а при максимальной испытанной концентрации (100 мг/л) достигало 137 мг/кг, что в 25 раз превышало содержание в контроле ($r=0,9$, $p<0,005$).

Таблица 5.3. Коэффициенты транслокации и биоконцентрации для сегментов мяты, выращенной в почве, обработанной CuNPs

Концентрация растворов CuNPs мг/л	КБК			КТ		
	Корни	Стебли	Листья	Стебли/ Корни	Листья/ Стебли	Листья/ Корни
1	0,48	0,21	0,36	0,44	1,70	1,1
5	0,27	0,10	0,13	0,37	1,31	0,8
10	0,28	0,08	0,09	0,28	1,18	0,5
50	0,12	0,01	0,02	0,11	1,45	0,3
100	0,16	0,01	0,14	0,08	11,95	0,2

Полученные данные согласуются с представлением о том, что растения способны иммобилизовать потенциально токсичные металлы в корневой системе, ограничивая их транспорт в побеги [309]. В то же время, физико-химические взаимодействия между НЧ и клетками корней могут влиять на целостность и структуру клеточной стенки, вызывая расширение пор, что, в свою очередь, облегчает проникновение частиц в корни [310]. Эффективность поглощения и транспорта металлосодержащих наночастиц растениями зависит от ряда факторов, включая свойства почвы, физико-химические свойства наночастиц и биологические особенности растений [262,311].

Данные, полученные нами при орошении *Mentha spicata* L. растворами AuNPs согласуются с результатами, полученными ранее Malejko и соавторами [262], которые наблюдали накопление AuNPs в корнях, стеблях и листьях растений картофеля, при этом отмечая, что значительная часть внесенных наночастиц оставалась в почве. Однако, в другом нашем исследовании, внесение 1–100 мг/л AuNPs в прикорневую часть *Petroselinum crispum* (Mill.) привело к их высокому поглощению корнями, а также к активному переносу в листья [261]. Ряд исследований продемонстрировал, что наночастицы золота могут поглощаться корнями растений и транспортироваться через растительные ткани, но

локализация в сегментах растений может варьироваться [205,262,312]. Было отмечено, что поглощение и перемещение частиц может сильно зависеть от их размера, цитрат-стабилизированные AuNPs размером 3,5 нм легко поглощаются растениями, в то время как более крупные (18 нм) частицы не проникают в ткани [210].

Также сообщалось, что растения способны поглощать золото в растворимой форме и транспортировать его в надземные части, однако в восстановительной среде происходит осаждение на поверхности клеток, что препятствует проницаемости мембраны [199]. Gao и соавторы [47] отмечали высокую степень извлечения AuNPs из почвы в диапазоне pH 4,0-10, в то время как Reith F. и Cornelis G. [313] показали их высокую стабильность в почве.

Эффекты, наблюдаемые нами после внесения AgNPs в прикорневую часть *Mentha spicata* L. сопоставимы с ранее опубликованными работами, где было описано преимущественное накопление серебра в корнях и его ограниченный транспорт в надземную *Brassica sp.* [292], *Arabidopsis thaliana* [293] и *Oryza sativa* L. [314]. Du и соавторы [315] отмечали, что агрегация наночастиц способствует их удержанию в клеточных стенках корня, что снижает последующий транспорт в побеги. Ранее сообщалось, что AgNPs могут существенно подавлять транспирацию воды корнями, ограничивать восходящий транспорт серебра, что объясняет значительную разницу в его содержании между почвой и сегментами растений, а также наблюдаемые морфологические изменения в побегах *Mentha spicata* L. [316,317]. Полученные результаты по распределению серебра в растениях *Mentha spicata* L. после корневой обработки AgNPs согласуются с данными, полученными в нашем эксперименте с *Calendula officinalis* L., где также был отмечен активный транспорт серебра из корневой системы в надземную часть [270,294].

Результаты внесения CuNPs в прикорневую часть мяты колосистой коррелируют с литературными данными [284,310]. Kohatsu и соавторы [284] показали различия в накоплении наночастиц CuO и сульфата меди (CuSO₄) при разных способах внесения, также отметив, что при почвенном внесении обе формы меди практически не переносились в листья. Аналогично, в работе [310] содержание меди в корнях сои, выращенной на почве, обработанной CuNPs (10–30 нм), было значительно выше, чем в других частях растений. Было отмечено, что важным фактором, определяющим биодоступность CuNPs во время поглощения корнями, является их химическая трансформация в ризосфере, что требует проведения дополнительных исследований [318].

5.2. Внесение наночастиц методом опрыскивания

5.2.1. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на биохимический статус растений

Обработка листовой поверхности растений мяты растворами AuNPs вызывала статистически значимые изменения в содержании важных фотосинтетических пигментов - хлорофилла и каротиноидов. Содержание хлорофилла в листьях увеличивалось во всем испытанном диапазоне концентраций AuNPs (1–100 мг/л) на 16,5–41,5% по сравнению с контролем (рис.5.7).

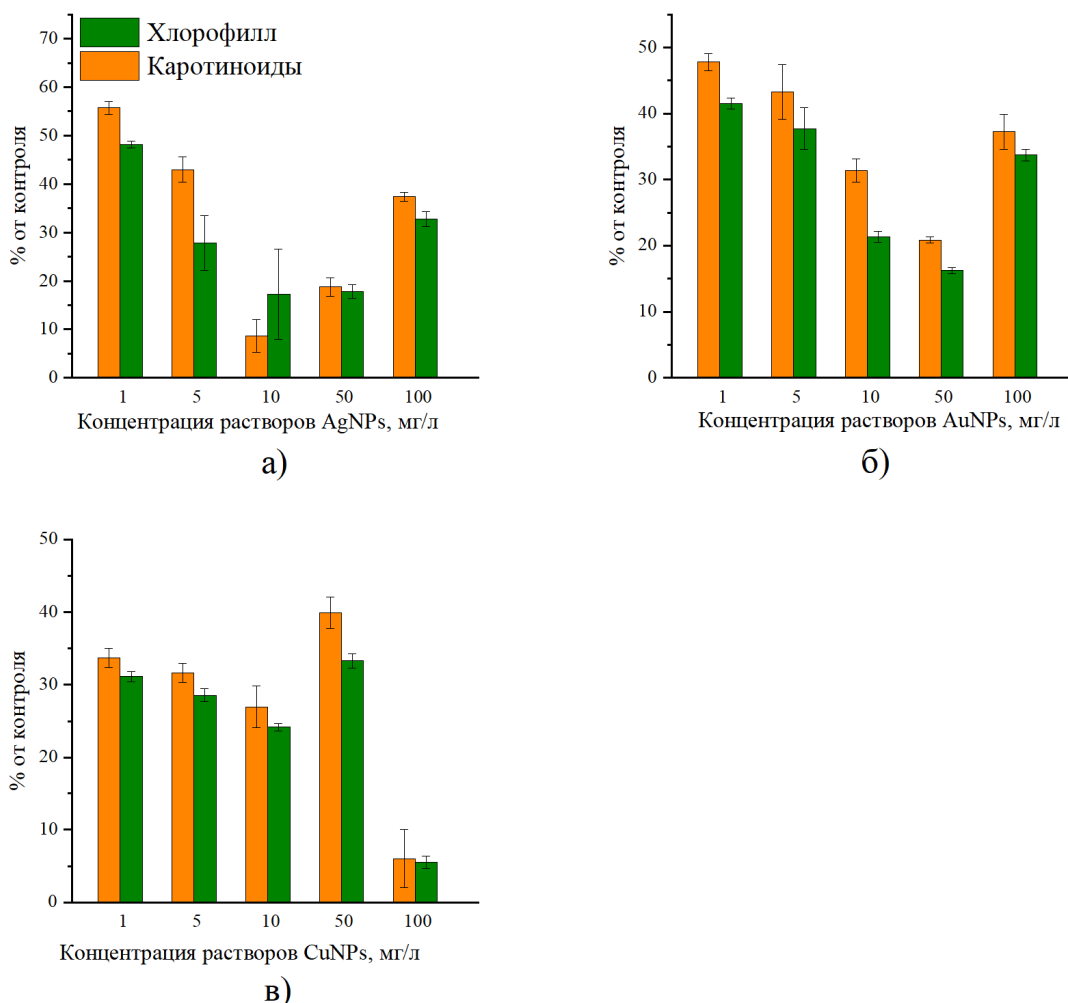


Рисунок 5.7. Изменение содержания каротиноидов и общего хлорофилла в листьях мяты, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

Максимальный стимулирующий эффект на содержание хлорофилла наблюдался при низких концентрациях: увеличение на 41,5% ($p < 0,05$) и 37,7% ($p < 0,001$) при концентрациях AuNPs 1 и 5 мг/л соответственно. В то же время, согласно данным Manaf и соавторов [319], у пшеницы обработка AuNPs приводила к увеличению содержания хлорофилла только при концентрации 10 мг/л, тогда как более высокие дозы вызывали его снижение. Содержание каротиноидов также демонстрировало значимое увеличение при большинстве использованных концентраций, наибольший стимулирующий эффект

отмечен также при концентрациях AuNPs 1 и 5 мг/л - на 48% ($p < 0,05$) и 43,5% ($p < 0,001$) соответственно. Более высокие концентрации (до 100 мг/л) также вызвали увеличение уровня каротиноидов до 37,4% ($p < 0,05$).

При опрыскивании 1-5 мг/л AgNPs содержание каротиноидов в растениях увеличилось на 55,9% ($p < 0,05$) и 42,9% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Более высокие концентрации AgNPs (50 и 100 мг/л) вызвали увеличение содержания каротиноидов на 18,7% ($p < 0,05$) и 37,4% ($p < 0,05$). Максимальное увеличение содержания хлорофилла наблюдалось при самой низкой (1 мг/л) и самой высокой (100 мг/л) концентрациях на 48% ($p < 0,05$) и 32,8% ($p < 0,001$) соответственно.

Листовое воздействие растворами CuNPs на растения мяты стимулировало увеличение содержания каротиноидов и хлорофилла (рис.5.6). Содержание хлорофилла возросло на 24,2–33,4% ($p < 0,05$) при обработке 1–50 мг/л CuNPs, тогда как применение раствора с концентрацией 100 мг/л не оказала существенного влияния на содержание пигмента в листьях.

Обработка мяты AuNPs в концентрации 1 мг/л методом опрыскивания листовой поверхности привела к увеличению антиоксидантной активности на 46,2% ($p < 0,001$), а в диапазоне концентраций 5–100 мг/л - на 39,4–35,4% (по тесту ABTS). При этом, значительного эффекта на антиоксидантную активность по тесту DPPH не было обнаружено (Рис.5.8).

Параллельно с активацией антиоксидантной системы зафиксировано изменение содержания МДА. Обработка AuNPs привела к снижению уровня МДА в листьях мяты до 33,2% относительно контроля, указывая на отсутствие окислительного стресса у растений (рис.5.8).

Антиоксидантная активность по отношению к радикалу DPPH демонстрировала нелинейную зависимость от концентрации применяемых растворов AgNPs. Обработка AgNPs приводила к снижению активности не более, чем на 13,0% относительно контроля (Рис.5.8). Однако, по тесту ABTS применение AgNPs привело к увеличению антиоксидантной активности до 41,6%, ($p < 0,05$). Максимальный положительный эффект наблюдался при концентрации AgNPs 100 мг/л.

При этом, листовая обработка AgNPs привела также к легкому снижению содержания МДА (максимально на 11,2% по сравнению с контрольной группой растений), свидетельствуя об отсутствии окислительного стресса (рис.5.9).

При опрыскивании листы CuNPs 5–50 мг/л, антиоксидантная активность по ABTS тесту увеличилась на 26,1–40,2% относительно контроля (Рис.5.8). Применение 100 мг/л CuNPs приводило к увеличению на 25,4%, что было сопоставимо с эффектом от

концентраций 1 и 5 мг/л. Анализ методом DPPH показал снижение антиоксидантной активности в экстрактах мяты, обработанной CuNPs, по сравнению с экстрактами необработанных растений. Наблюдаемые изменения антиоксидантной активности в результатах тестов ABTS и DPPH может отражать избирательное влияние НЧ на различные компоненты антиоксидантной системы растений.

Содержание МДА при обработке растворами CuNPs 1-100 мг/л (рис.5.9) было на уровне контроля или наблюдалось его легкое снижение (максимально на 14,8% по отношению к контролю). Таким образом, полученные данные коррелируют с литературными представлениями о способности металлических наночастиц модулировать и усиливать антиоксидантный ответ растений [320].

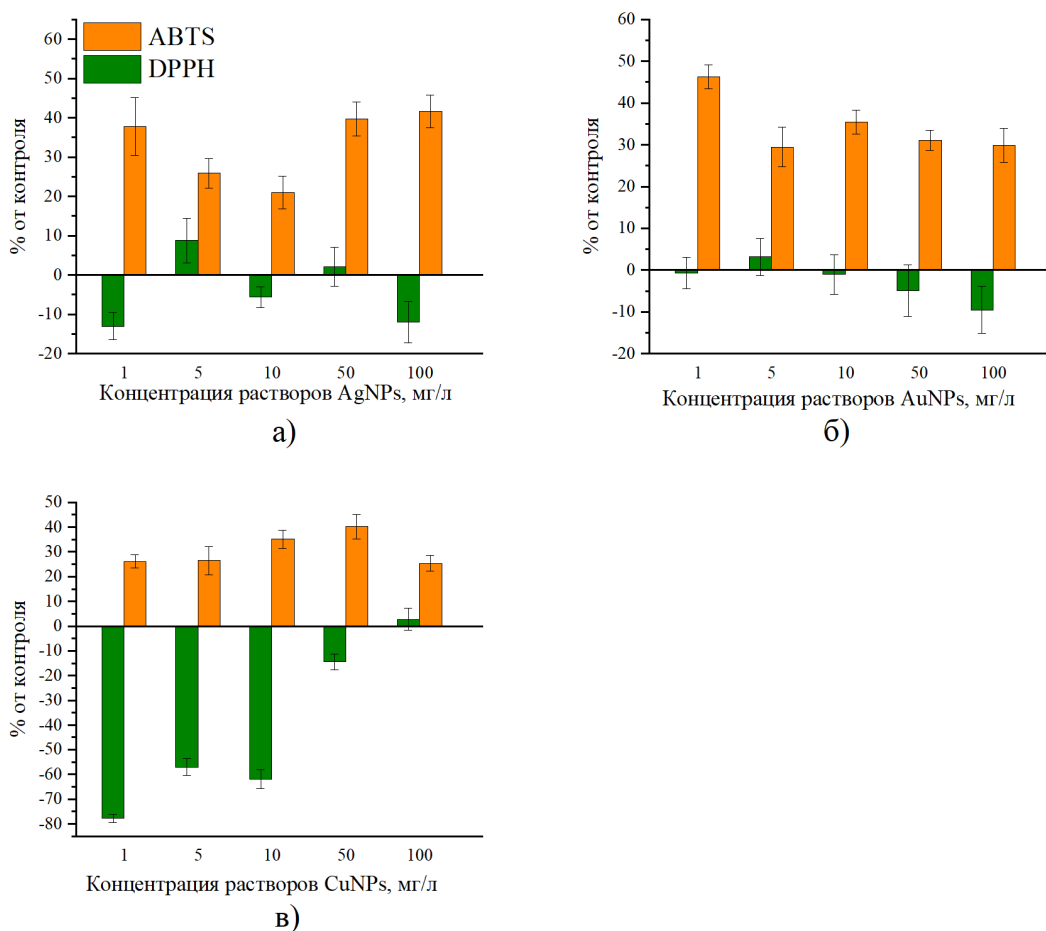


Рисунок 5.8. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из листьев мяты, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

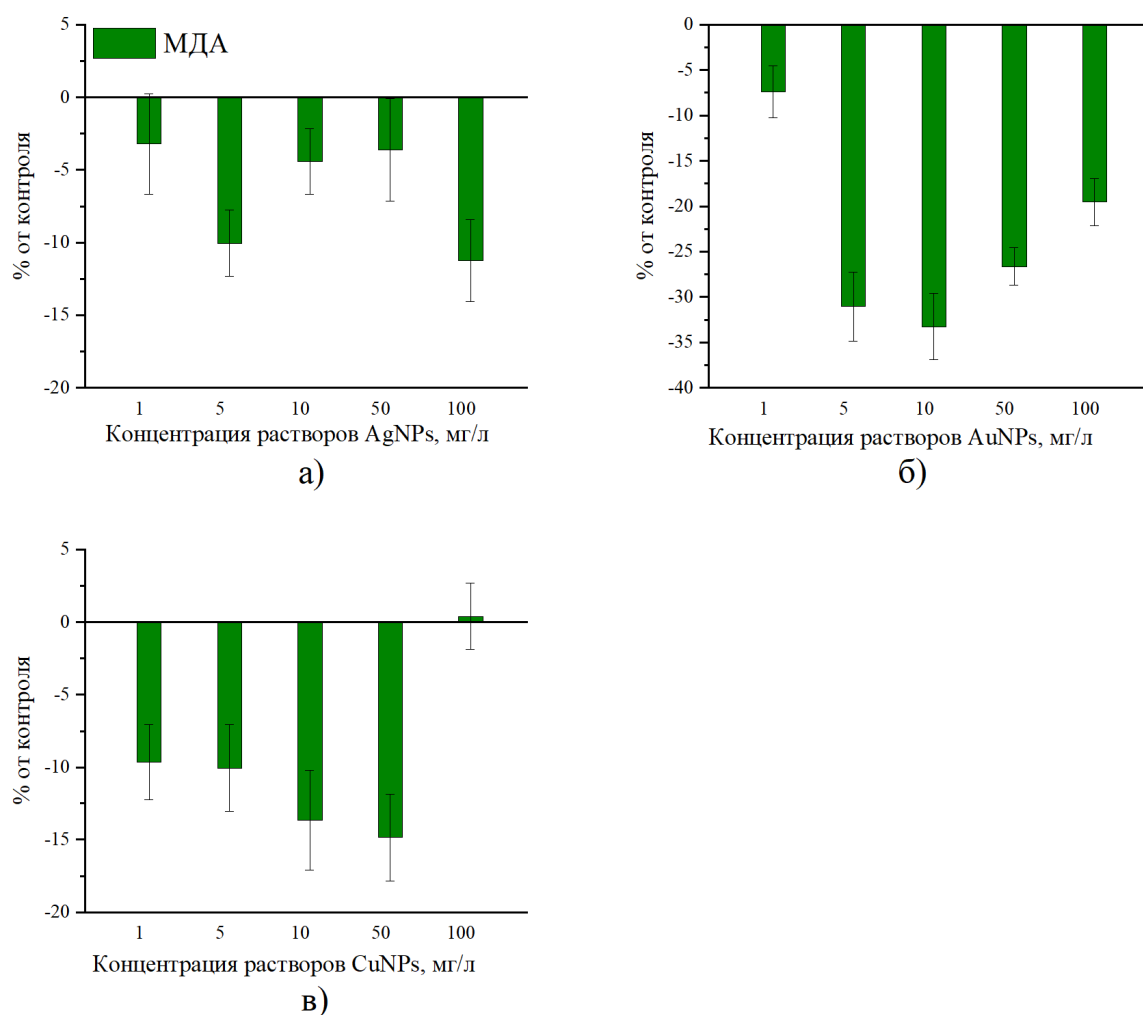


Рисунок 5.9. Изменение содержания малонового диальдегида в экстрактах, полученных из листьев мяты, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

Результаты, созвучные с нашими, были получены также другими исследователями на других растениях. Так, положительное влияние листовой обработки CuNPs, AgNPs, а также Cu-Ag NPs на биохимический профиль растений было также продемонстрировано на примере *Capsicum annuum* L., у которого наблюдалось значительное увеличение содержания хлорофилла и каротиноидов [321]. Применение CuNP в качестве наноудобрения приводило к существенному росту антиоксидантной активности у рассады французского базилика (*Ocimum basilicum* L. var. *Grand Vert*) и стимулировало синтез фотосинтетических пигментов [322].

5.2.2. Влияние AuNPs, AgNPs и CuNPs на накопление серебра, золота и меди в почве и сегментах *Mentha spicata* L.

В результате опрыскивания *Mentha spicata* L. растворами AuNPs было зафиксировано значительное увеличение содержания золота в надземных частях растений (рис.5.10). Между концентрацией AuNPs и содержанием золота в листьях и стеблях

наблюдалась прямо пропорциональная зависимость ($r = 0,99$ и $0,95$ соответственно при $p < 0,005$).

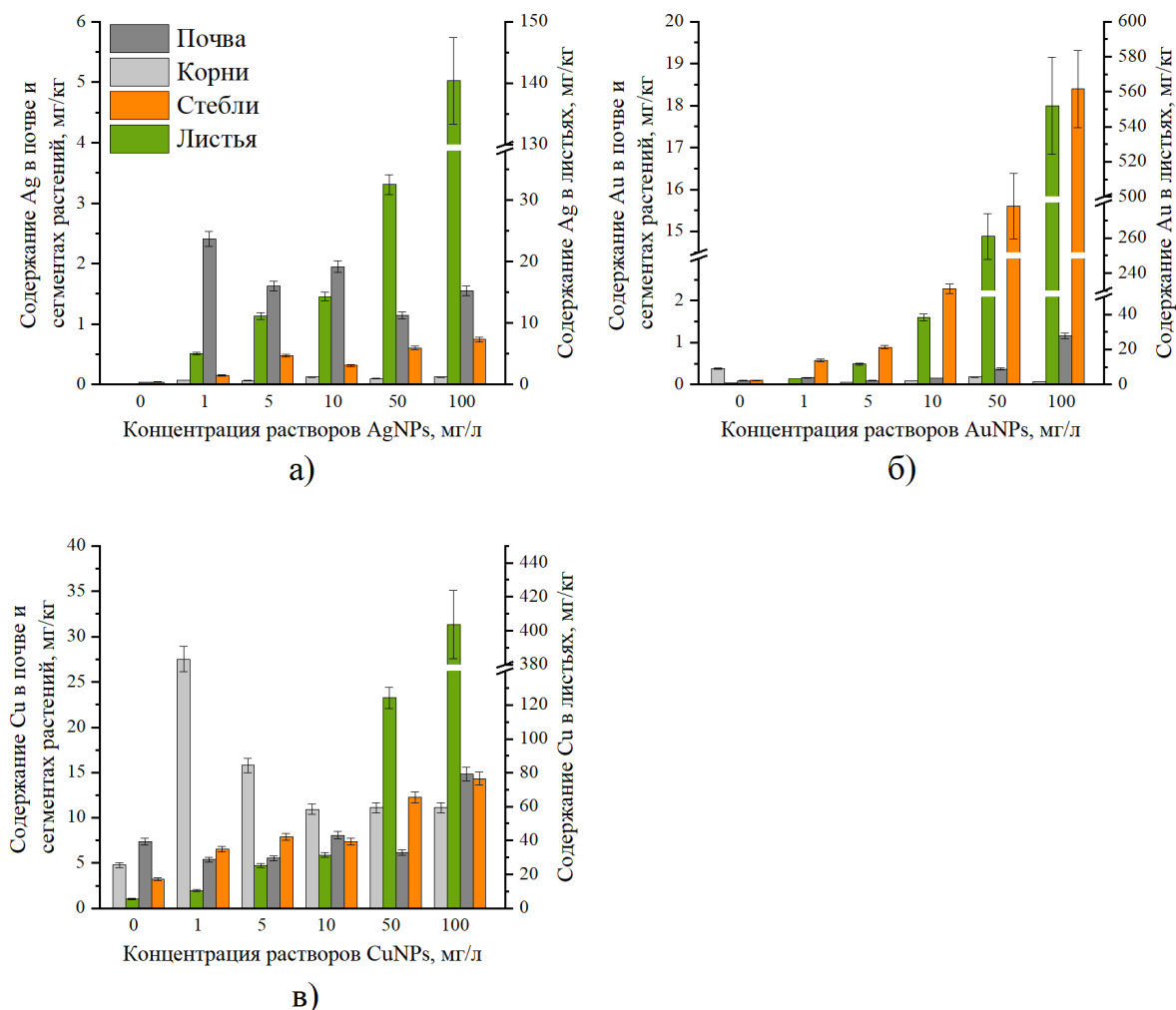


Рисунок 5.10. Содержание золота и меди в почве и сегментах мяты, подверженной листовой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.

Содержание золота в листьях увеличилось с 3,2 до 552 мг/кг, что превышало контрольные значения в 4-746 раз, в стеблях содержание варьировало от 0,57 до 18,4 мг/кг, превышая контроль в 6-188 раз. При всех вариантах обработки, рассчитанные КТ были менее 1 (табл.5.4). Обработка растений растворами AgNPs в диапазоне концентраций 1–100 мг/л привела к дозозависимому накоплению серебра в надземных частях мяты колосистой. Установлена прямая корреляция между концентрацией AgNPs в рабочих растворах и содержанием серебра в листьях ($r=0,96$, $p < 0,005$) и стеблях ($r=0,85$, $p < 0,005$). Максимальное содержание серебра было зафиксировано в листьях при применении AgNPs в концентрации 100 мг/л и составило 140,4 мг/кг. В стеблях максимальное накопление (0,74 мг/кг) наблюдалось в той же концентрации и превышало контрольные значения в 18 раз. Статистически значимой корреляции между концентрацией AgNPs в растворе и содержанием серебра в корнях выявлено не было ($r=0,62$, $p < 0,005$).

Таблица 5.4. Коэффициенты транслокации для сегментов мяты, подверженной листовой обработке AuNPs

Концентрация AuNPs, мг/л	КТ		
	Корни/Стебли	Стебли/Листья	Корни/Листья
1	0,019	0,176	0,003
5	0,055	0,077	0,004
10	0,036	0,059	0,002
50	0,012	0,060	0,001
100	0,004	0,033	0,0001

Рассчитанные КТ свидетельствуют о слабой транслокации серебра между сегментами растений (КТ <1) во всех вариантах обработки (табл.5.5).

Таблица 5.5. Коэффициенты транслокации для сегментов мяты, подверженной листовой обработке AgNPs

Концентрация растворов AgNPs мг/л	КТ		
	Корни/ Стебли	Стебли/ Листья	Корни/ Листья
1	0,483	0,029	0,014
5	0,133	0,043	0,006
10	0,390	0,022	0,009
50	0,163	0,019	0,003
100	0,166	0,005	0,001

Примечательно также, что накопление серебра было зафиксировано в почве (1,14–2,4 мг/кг). Даже при минимальной испытанной концентрации AgNP (1 мг/л) содержание серебра в почве возрастало в 62 раза относительно контроля. Увеличение содержания серебра в почве может быть связано с корневыми выделениями растений, в связи с тем, что во время проведения эксперимента почва была экранирована защитным покрытием, а сток с листьев контролировался дозированным применением растворов НЧ.

Опрыскивание листьев растворами CuNPs приводило к дозозависимому увеличению содержания меди в стеблях и листьях, тогда как в корнях наблюдалась обратная зависимость. Наибольшие значения КТ для системы «стебель–корень» (4,21 и 2,01 соответственно) были отмечены при применении 1 и 5 мг/л CuNPs (табл.5.6). Поступление

меди в корнях было максимальным (27,51 мг/кг) при концентрации CuNPs 1 мг/л, тогда как при концентрациях 10–100 мг/л оно лишь в 2,3 раза превышало контрольные значения. Максимальное поглощение меди листьями (124,3 и 403,5 мг/кг, превышающее контрольные значения в 22 и 73 раза соответственно) было достигнуто при концентрациях CuNPs 50 мг/л и 100 мг/л ($r = 0,98$ при $p < 0,005$).

Таблица 5.6. Коэффициенты транслокации для сегментов мяты, подверженной листовой обработке CuNPs

Концентрация растворов CuNPs мг/л	КТ		
	Корни/ Стебли	Стебли/ Листья	Корни/ Листья
1	4,21	0,62	2,62
5	2,01	0,31	0,63
10	1,49	0,23	0,35
50	0,91	0,10	0,09
100	0,77	0,04	0,03

Результаты, полученные при опрыскивании растворами AuNPs растений *Mentha Spicata* L. сопоставимы с литературными данными, полученными для *Brassica juncea* [39]. Исследование Avellan и соавторов [207] на пшенице показало, что при опрыскивании AuNPs с цитратным покрытием накапливались в листьях активнее, чем частицы, покрытые поливинилпирролидоном (ПВП). Авторы предположили, что поглощение AuNPs с ПВП-покрытием может частично происходить за счет пассивной диффузии через кутикулу и, возможно, через устьичные отверстия. У *Perilla frutescens* была подтверждена аккумуляция AuNPs через устьица [283].

Однако, примечательно, что в наших опытах аккумуляция золота в корневой системе *Mentha Spicata* L. практически не наблюдалась, в то время как в литературе были описаны случаи последующего транспорта наночастиц из листьев в корни, например, для арбуза, где AuNPs размером 30–80 нм перемещались по флоэме [323].

Одной из возможных причин низкой транслокации наночастиц может быть агрегация наночастиц, приводящая к более низкой фактической концентрации золотых наночастиц, доступных для поглощения растениями [324,325]. Кроме того, исследования показывают, что золото в ионной форме обладает более высокой мобильностью в растении

и активнее транспортируется из корней в побеги по сравнению с золотом в форме наночастиц [206].

Обнаруженный нами перенос золота в ризосферу после листовой обработки *Mentha Spicata* L. соответствует описанному ранее механизму выделения наночастиц через корневую систему. Согласно данным литературы, при опрыскивании листьев в почву может поступать от 5 до 15% наночастиц золота с различными покрытиями и размером до 50 нм [207].

Данные, полученные нами в результате опрыскивания листовой поверхности *Mentha Spicata* L. растворами AgNPs согласуются с результатами Li и соавторов [194], которые показали, что листовое воздействие ПВП-покрытыми AgNPs (диаметр 17–18 нм) вызывает преимущественное накопление серебра в листьях сои (*Glycine max*) и риса (*Oryza sativa* L.) по сравнению с корневым внесением, а также обладает меньшей фитотоксичностью. В то же время, Wu и соавторы [326] наблюдали противоположную тенденцию для салата (*Lactuca sativa*): при равных концентрациях наибольшее накопление происходило при корневом воздействии, чем при листовом.

Основным путем проникновения распыленных наночастиц в листья являются устьица, однако восковой налет кутикулы и клеточная стенка могут служить барьерами для их поглощения. Также сообщалось, что некоторые наночастицы образуют микрометрические агрегаты на поверхности листьев или в устьицах [120,327,328]. Результаты, полученные нами при листовой обработке мяты колосистой растворами CuNPs согласуются с данными Xiong и соавторов [327], где наночастицы CuO, нанесенные на листья, преимущественно аккумулировались в листьях салата и капусты. Keller et al. . [183] было выявлено, что накопление наночастиц CuO на листьях зависит от вида растения, а также гидрофильности поверхности листьев и шероховатости кутикулы. Наибольшее количество НЧ было обнаружено на поверхности листьев салата (*Lactuca sativa*), за которым следуют листья капусты (*Brassica oleracea*, var. *Acephala*) и затем листья листовой капусты (*Brassica oleracea*, var. *Acephala Lacinato*) [183].

В условиях идентичных экспериментов по нанесению НЧ на листовую поверхность, проведенных нами с растениями *Mentha Spicata* L. и *Calendula officinalis* L. было выявлено, что мята способна накапливать больше золота, серебра и меди, чем календула [270]. Это можно объяснить особенностью ее листовой поверхности: выраженная шероховатость и характерное опушение увеличивают площадь контакта и улучшают удержание влаги, способствуя повышенной адсорбции и, вероятно, более эффективному поглощению наночастиц по сравнению с относительно гладкими листьями календулы.

5.3. Оценка рисков для здоровья человека, связанных с употреблением растительного отвара *Mentha spicata* L., обработанной AgNPs, AuNPs и CuNPs

Поскольку *Mentha spicata* L. активно используется для приготовления чаев и настоев, была проведена оценка риска переноса золота, серебра и меди из растений, обработанных AuNPs, AgNPs, CuNPs. Для этого, из высушенных измельченных листьев готовили травяной настой, настаивали, фильтровали, затем проводили соответствующие измерения. Содержание меди в настое определяли методом ИСП-ОЭС, а золота и серебра - методом ААС.

Установлена зависимость концентрации металла в настое от его содержания в растительном материале в зависимости от способа внесения НЧ. Концентрация золота в настоях, приготовленных из листьев растений после корневой обработки AuNPs варьировала от 0,124 до 81,76 мкг/л, демонстрируя высокую корреляцию с содержанием металла в листьях ($r=0,99$, $p < 0,005$). Степень экстракции золота в настой при заваривании составила 2-45%. При обработке мяты колосистой методом опрыскивания, концентрация золота в настоях (0,04–18 мкг/л) также зависела от его содержания в листьях ($r=0,98$, $p < 0,005$), экстракция составила 2-90% (табл.5.7).

Таблица 5.7. Содержание золота в настое, приготовленного из листьев мяты колосистой после обработки AuNPs.

Содержание золота в настое, мкг/л			Содержание золота в листьях, мг/кг		Экстракция, %	
Конц. растворов AuNPs, мг/л	Корневое орошение	Листовое внесение	Корневое орошение	Листовое внесение	Корневое орошение	Листовое внесение
0	0,66		0,74		2	
1	0,12	35	0,12	3,2	2	22
5	3,8	148	0,17	11,6	45	26
10	7,3	625	0,72	38,4	20	33
50	16,3	11760	1,6	261	20	90
100	81	18726	5,4	552	30	68

В случае корневой обработки мяты AgNPs наблюдалось дозозависимое увеличение концентрации серебра в настоях от 0,338 до 1,348 мкг/л ($r=0,91$, $p < 0,005$), с экстракцией 0,16-0,64%. При обработке листьев мяты опрыскиванием AgNPs, концентрация серебра в

настое возрастала с 0,056 до 6,03 мг/л ($r=0,99$, $p < 0,005$). Максимальное извлечение серебра (98%) в настое было отмечено при обработке листьев 50 мг/л AgNPs (табл.5.8).

Таблица 5.8. Содержание серебра в настое, приготовленного из листьев мяты колосистой, обработанных AgNPs.

Конц. растворов AgNPs, мг/л	Содержание серебра в настое		Содержание серебра в листьях, мг/кг		Экстракция, %	
	Корневое орошение, мкг/л	Листовое внесение, мг/л	Корневое орошение	Листовое внесение	Корневое орошение	Листовое внесение
0	<LOD		0,003		<LOD	
1	0,338	0,056	1,05	5,05	0,64	22
5	0,512	0,144	1,94	11,2	0,53	26
10	0,811	0,348	3,66	14,3	0,44	49
50	0,992	1,590	5,76	32,5	0,34	98
100	1,348	6,030	16,9	140,4	0,16	86

Концентрация меди в настоях, приготовленных из листьев *Mentha spicata* L., подверженных корневой обработке CuNPs, находилась в диапазоне 0,125–0,215 мг/л, демонстрируя слабую корреляцию с содержанием в листьях ($r=0,79$, $p < 0,005$). При этом, при обработке мяты методом опрыскивания, концентрация меди в настоях варьировала от 0,238 мг/л до 1,53 мг/л, демонстрируя прямо пропорциональную зависимость ($r=0,97$, $p < 0,005$) от содержания меди в листьях (табл.5.9).

Таблица 5.9. Содержание меди в настое, приготовленного из листьев мяты колосистой, обработанных CuNPs.

Конц. растворов CuNPs, мг/л	Содержание меди в настое, мг/л		Содержание меди в листьях, мг/кг		Экстракция, %	
	Корневое орошение	Листовое внесение	Корневое орошение	Листовое внесение	Корневое орошение	Листовое внесение
0	0,175	0,175	5,48	5,48	64	64
1	0,125	0,238	8,03	10,5	31	55
5	0,165	0,242	9,92	25,1	33	24
10	0,169	0,583	10,81	31,4	31	37
50	0,158	0,619	13,83	124,3	23	10

100	0,215	1,530	137	403,5	3	8
-----	-------	-------	-----	-------	---	---

Экстракция меди для обоих методов воздействия варьировалась от 3 до 55%, что сопоставимо с данными, полученными для смешанных травяных настоев из Северной Осетии (Кавказ), где процент извлечения находился в диапазоне от 16 до 57% [329].

Для понимания возможных рисков для здоровья человека, были рассчитаны значения коэффициентов опасности и оценочные значения суточной дозы (ОСД) золота, серебра и меди, которые будут получены в случае регулярного употреблении чайного настоя, приготовленных из загрязненных листьев мяты. Значения ОСД для настоев, приготовленных из листьев после листовой обработки AuNPs, превышали аналогичные показатели для растений после корневой обработке AuNPs в 38–300 раз (табл.5.10).

Таблица 5.10. Расчетные значения ОСД и КО, рассчитанный при употреблении настоя, приготовленного из листьев мяты, обработанных AgNPs, AuNPs и CuNPs прикорневым и листовым способами.

ОСД			КО	
Конц. растворов НЧ, мг/л	Корневое орошение	Листовое внесение	Корневое орошение	Листовое внесение
AuNPs	0	$1,18 \times 10^{-5}$	$8,93 \times 10^{-6}$	
	1	$2,14 \times 10^{-6}$	$6,25 \times 10^{-4}$	$4,73 \times 10^{-4}$
	5	$6,79 \times 10^{-5}$	$5,14 \times 10^{-5}$	$2,00 \times 10^{-3}$
	10	$1,30 \times 10^{-4}$	$9,88 \times 10^{-5}$	$8,46 \times 10^{-3}$
	50	$2,91 \times 10^{-4}$	$2,21 \times 10^{-4}$	$1,59 \times 10^{-1}$
	100	$1,45 \times 10^{-3}$	$1,10 \times 10^{-3}$	$2,53 \times 10^{-1}$
CuNPs	0	$3,13 \times 10^{-3}$	$7,81 \times 10^{-2}$	
	1	$2,23 \times 10^{-3}$	$5,56 \times 10^{-2}$	$1,1 \times 10^{-1}$
	5	$2,95 \times 10^{-3}$	$7,38 \times 10^{-2}$	$1,1 \times 10^{-1}$
	10	$3,01 \times 10^{-3}$	$7,53 \times 10^{-2}$	$2,6 \times 10^{-1}$
	50	$2,83 \times 10^{-3}$	$7,07 \times 10^{-2}$	$2,8 \times 10^{-1}$
	100	$3,85 \times 10^{-3}$	$9,62 \times 10^{-2}$	$6,8 \times 10^{-1}$
AgNPs	0	$7,27 \times 10^{-7}$	$1,45 \times 10^{-4}$	
	1	$6,03 \times 10^{-6}$	$1,21 \times 10^{-3}$	0,2
	5	$9,14 \times 10^{-6}$	$1,83 \times 10^{-3}$	0,51
	10	$1,45 \times 10^{-5}$	$2,90 \times 10^{-3}$	1,24

50	$1,77 \times 10^{-5}$	$2,84 \times 10^{-2}$	$3,54 \times 10^{-3}$	5,68
100	$2,41 \times 10^{-5}$	$1,08 \times 10^{-1}$	$4,81 \times 10^{-3}$	21,5

Независимо от способа внесения AuNPs значения КО были ниже единицы, что указывает на низкую вероятность возникновения негативных последствий для здоровья при потреблении настоя (если принять референтную суточную дозу на уровне 1,32 мкг/кг) [251]. Следует отметить, что установленная референтная доза для золота отсутствует, поскольку низкая растворимость элементарного золота предполагает его минимальную биодоступность и незначительное влияние на организм [330]. Однако было показано, что даже низкие дозы перорально введенных AuNPs способны накапливаться в различных органах, включая репродуктивные, и сохраняться после периода выведения. Кроме того, AuNPs обладают высокой биологической активностью и могут вызывать отдаленные эффекты [331].

Значения ОСД, рассчитанные в случае употребления настоев из листьев после листовой обработки были в 1,4–3,7 раза выше, чем в случае полива растений CuNPs. ОСД возрастало с увеличением концентрации меди в настое, достигая максимума при содержании меди в настое 1,53 мг/л. При корневом внесении концентрация меди в настое составляла 0,125–0,215 мг/л, а значения ОСД незначительно отличались от контрольных. Во всех вариантах КО был <1, что свидетельствует об отсутствии риска для здоровья при длительном употреблении настоя с концентрацией меди до 1,53 мг/л.

При оценке возможного влияния AgNPs на здоровье человека, было выявлено, что значения КО увеличивались с ростом концентрации серебра в настое в случае листовой обработки растений. Концентрации серебра в настое, превышающей 0,348 мг/л могут приводить к увеличению коэффициента опасности ($КО > 1$), что создает потенциальный риск для здоровья человека при регулярном потреблении таких настоев. В случае корневой обработки значения ОСД и КО были ниже 1, что соответствует низкому уровню риска. Однако риски, связанные с наночастицами, не следует недооценивать. Так, у млекопитающих *in vivo* был отмечена системная токсичность AgNPs (снижение прироста массы тела) при пероральном и кожном воздействии, а у людей при приеме высоких доз коллоидного серебра были зафиксированы желудочно-кишечные расстройства, судороги и нейротоксичность [332]. Установлено, что биофункционализированные AgNPs, полученные с использованием спиролины, и AgNPs, стабилизированные полиэтиленгликолем, при длительном пероральном введении накапливаются в головном мозге, селезенке, печени и почках крыс [221].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при соблюдении исследованных концентраций и условий применения наночастиц большинство вариантов обработки не формируют непосредственного токсикологического риска для потребителя, о чем свидетельствуют значения $KO < 1$. Вместе с тем следует учитывать, что традиционные показатели ОСД и КО основаны преимущественно на оценке растворимых форм элементов и не в полной мере отражают специфические свойства наночастиц - их размерозависимую биодоступность, способность к бионакоплению и пролонгированное действие.

Особую осторожность следует проявлять в отношении вариантов листовой обработки, при которых отмечается более высокий переход металлов в настой и, соответственно, увеличение расчетных показателей экспозиции. Даже при отсутствии превышения пороговых значений КО, потенциальные отдаленные эффекты, связанные с кумуляцией наночастиц в органах-мишенях и их высокой биологической активностью, требуют дополнительной токсикокинетической и долгосрочной оценки.

В целом, данные подтверждают необходимость комплексного подхода к оценке безопасности фитопродукции, выращенной с применением наночастиц, с учетом не только количественных показателей потребления, но и специфики наноразмерных форм металлов, их трансформации в растительной системе и возможных кумулятивных эффектов при хроническом воздействии.

5.4. Выводы к Главе 5

1. При внесении AuNPs, AgNPs, CuNPs в прикорневую часть *Mentha spicata* L. была выявлена общая закономерность распределения золота, серебра и меди: максимальное накопление имело место в почве и корневой системе, тогда как транслокация в надземные части была ограничена. Однако, в случае применения растворов AgNPs 1, 10, 100 мг/л, содержание серебра в листьях *Mentha spicata* L. превышало содержание в корнях. Таким образом, можно сделать вывод, что транслокация в ткани растений зависит как от типа наночастиц, так и их концентрации.

2. Прикорневое внесение AgNPs и CuNPs в диапазоне концентраций 1-100 мг/л вызывало увеличение содержания каротиноидов и хлорофилла в листьях мяты. В отличие от них, AuNPs проявляли неоднозначный эффект, концентрации 1 и 100 мг/л увеличивали содержание каротиноидов, тогда как положительное влияние на содержание хлорофилла наблюдалось только при AuNPs 1 мг/л. Применение AuNPs, CuNPs и AgNPs в низких концентрациях способствует повышению общей антиоксидантной активности экстрактов из листьев мяты.

3. Внесение AuNPs, AgNPs и CuNPs методом листового опрыскивания привело к дозозависимому накоплению металлов в листьях мяты и ограниченное поступление в корневую систему. Однако, листовая обработка *Mentha spicata* L. AuNPs и AgNPs привела к последующему обнаружению золота и серебра в почве, подтверждая способность растений транспортировать металлы в корневую систему и далее высвобождать их в окружающую почву. Этот процесс может приводить к вторичному загрязнению агроэкосистем.

4. Листовая обработка AuNPs, AgNPs и CuNPs в диапазоне концентраций 1-100 мг/л статистически значимо повышала антиоксидантную активность и содержание хлорофилла и каротиноидов в листьях мяты. Наибольший эффект отмечался при использовании концентраций НЧ 1-5 мг/л.

5. Прикорневое орошение AuNPs, AgNPs, CuNPs растений *Mentha spicata* L. привело к дозозависимому накоплению золота, серебра и меди в почвенном грунте, что указывает на высокий риск загрязнения окружающей среды. Наличие НЧ привело к угнетению активности почвенной микробиоты, особенно в долгосрочной перспективе, что может нарушить процессы разложения органического вещества, гумификации и биогеохимических циклов. AgNPs и CuNPs оказали наибольшее ингибирующее действие на микробные сообщества.

6. Долгосрочное употребление чайных настоев из мяты, выращенной с применением AuNPs, AgNPs, CuNPs может быть сопряжено с рисками для здоровья. Оценка степени экстракции позволяет заключить, что важными факторами переноса золота, серебра и меди из листьев в настой, являются тип наночастиц и способ обработки растений. Листовая обработка приводит к значительно более высокому содержанию металлов в настое и, следовательно, к высокой оценочной суточной дозе по сравнению с корневой обработкой. Для полноценной оценки рисков необходима разработка нормативов, включающих референтные дозы и предельно допустимые уровни содержания именно наноразмерных форм металлов в пищевой продукции. Таким образом, для использования НЧ металлов в сельском хозяйстве необходимо тщательно оценить как положительные эффекты, также сопутствующие риски.

Представленные в данной главе результаты и выводы были опубликованы в рецензируемых журналах, индексируемых в WoS и Scopus [269,271,294].

6. ВЛИЯНИЕ ОДНОКРАТНОГО ВНЕСЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ И НАКОПИТЕЛЬНУЮ СПОСОБНОСТЬ РАСТЕНИЙ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ.

6.1. Накопление золота, серебра и меди в почве и сегментах растений и влияние на биохимический состав *Mentha spicata* L. при обработке AgNPs, AuNPs и CuNPs

Металлические наночастицы рассматриваются как перспективный инструмент для разработки новых нанопестицидов и наноудобрений, которые направлены на увеличение урожайности сельскохозяйственных культур и повышение устойчивости растений к стрессу. Лабораторные эксперименты, проводимые в контролируемых условиях, позволяют установить фундаментальные механизмы взаимодействия НЧ с растениями, однако биотические и абиотические факторы открытой среды способны существенно модифицировать биодоступность, транслокацию и фитотоксичность НЧ. Учитывая, что НЧ могут оказывать как положительное, так и отрицательное воздействие на растения, важно дополнять лабораторные исследования полевыми экспериментами для оценки их воздействия в реальных условиях.

Выбор схемы однократного прикорневого внесения растворов НЧ обусловлен необходимостью моделирования долгосрочных эффектов разового воздействия НЧ, и отражения реальных сценариев агрономической практики, в которых многократные обработки экономически или технологически нецелесообразны. Диапазон концентраций был выбран для выявления дозозависимых эффектов от потенциально стимулирующих до токсических. Срок экспозиции (28 суток после обработки) обеспечивает оценку адаптационных процессов, включая аккумуляцию и перераспределение металлов в тканях растений.

Основная цель полевого исследования заключалась в оценке реакции *Mentha spicata* L. на однократное прикорневое воздействие НЧ в условиях открытого грунта с последующим установлением корреляций между дозой воздействия, уровнем их накопления в почве, интенсивностью транслокации в растительные ткани и изменением биохимического профиля растений. Эксперимент был реализован на опытном участке Объединенного института ядерных исследований (ОИЯИ) в летний период. Укорененные черенки мяты колосистой высаживали в почвенный грунт. На 14 день после укоренения проводили однократную обработку, где под каждое растение вносили по 200 мл растворов AuNPs, AgNPs и CuNPs в концентрациях 5, 50 и 100 мг/л.

Спустя 28 дней отбирали сегменты растений (корни, стебли, листья) и образцы ризосферной части почвы, высушивали до постоянной массы, измельчали и далее

выполняли этапы пробоподготовки для последующего элементного анализа методами атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-ОЭС) и атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС). Также, часть биомассы использовали для выполнения биохимических тестов.

Было установлено, что общее содержание металлов в почве и их накопление в *Mentha spicata* L. снижалось в ряду $\text{Cu} > \text{Ag} > \text{Au}$. В корнях и листьях последовательность накопления соответствовала этому тренду, в то время как в стеблях серебро накапливалось менее интенсивно, чем золото. Обработка НЧ в диапазоне концентраций 5–100 мг/л вызывала статистически значимое ($p < 0,05$) дозозависимое накопление золота, серебра и меди в корневой системе. Однако интенсивность поглощения различалась: содержание меди в корнях под действием CuNPs увеличилась в 1-2,2 раза по сравнению с контролем, тогда как накопление золота и серебра было выше в 20–438 и 70–1308 раз соответственно (рис.6.1). Рассчитанные коэффициенты биоконцентрации и транслокации представлены в таблице 6.1.

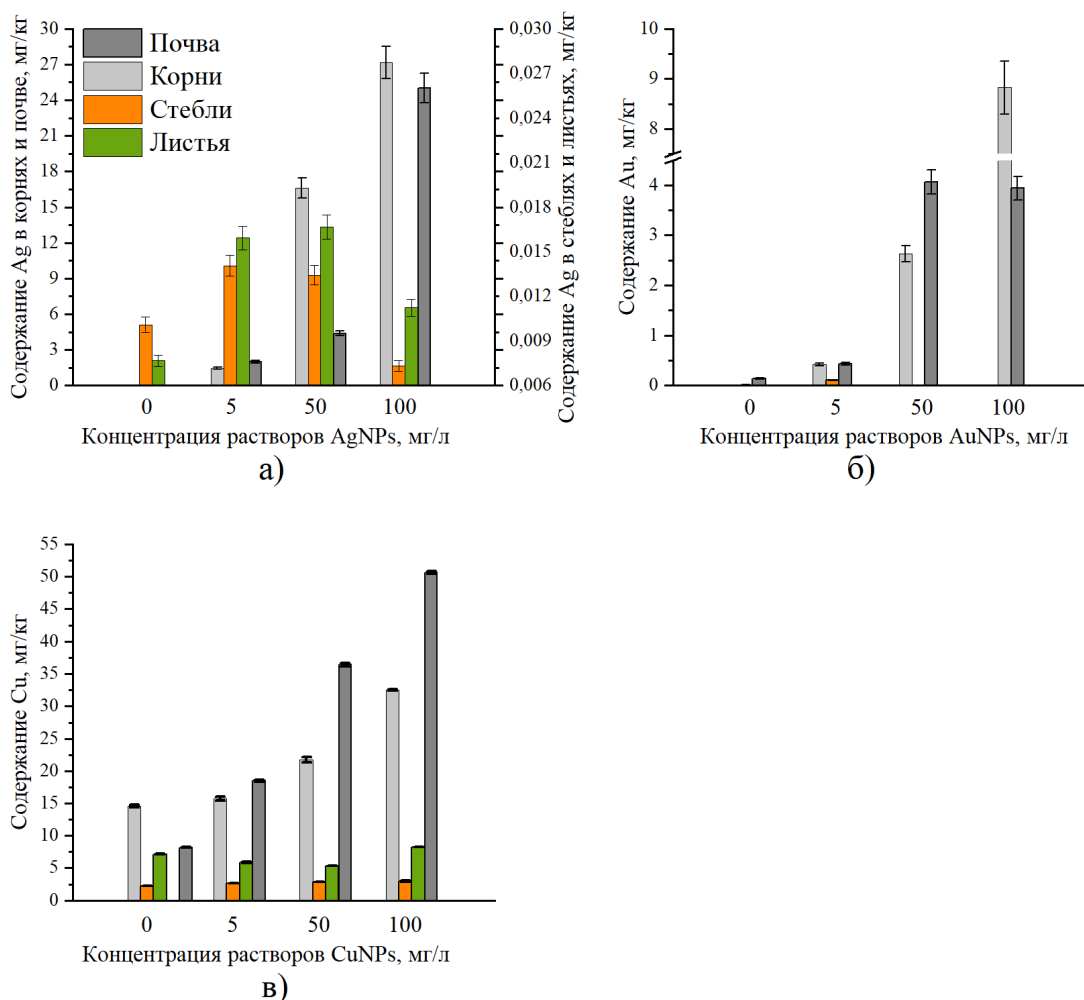


Рисунок 6.1. Содержание серебра, золота и меди в почве и сегментах мяты колосистой, подверженной прикорневой обработке (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs.

Таблица 6.1. Коэффициенты транслокации и биоконцентрации для сегментов мяты колосистой, обработанной AgNPs, AuNPs и CuNPs прикорневым способом.

		КБК			КТ		
Конц. растворов		Корни	Стебли	Листья	Листья/ Корни	Стебли/ Корни	Листья/ Стебли
НЧ, мг/л							
Cu	0	1,78	0,27	0,87	0,49	0,15	3,21
	5	0,85	0,14	0,32	0,37	0,17	2,24
	50	0,60	0,08	0,15	0,24	0,13	1,84
	100	0,64	0,06	0,16	0,25	0,09	2,81
Au	0	0,15	-	-	-	-	-
	5	0,97	0,24	-	-	0,25	-
	50	0,65	0,001	-	-	0,001	-
	100	2,24	-	-	-	-	-
Ag	0	0,68	0,33	0,25	0,37	0,49	0,76
	5	0,72	0,01	0,01	0,01	0,01	1,13
	50	3,79	0,001	0,001	0,001	0,001	1,24
	100	1,08	0,001	0,001	0,001	0,001	1,53

Накопление золота в растениях *Mentha spicata* L. происходило преимущественно в корневой системе ($r = 0,97$, $p < 0,05$) и почве ($r = 0,88$, $p < 0,05$). Максимальное содержание золота (8,82 мг/кг) было зарегистрировано в корнях при обработке AuNPs в концентрации 100 мг/л (КБК 2,24), что указывает на активное его поглощение из почвы. Транслокация золота в надземные части была незначительной: определяемые содержания элемента были обнаружены только в стеблях при обработке 5 мг/л (0,104 мг/кг) и 50 мг/л (0,002 мг/кг) AuNPs, а перенос в листья не был зафиксирован.

Подобная закономерность накопления золота наблюдалась также в лабораторных условиях на *Mentha spicata* L. [269], однако в указанной работе при концентрации 100 мг/л в листьях содержание золота достигало 5,49 мг/кг. В эксперименте с кратковременным воздействием НЧ, золото было обнаружено в надземной части *Petroselinum crispum* Mill., причем в случае применения AuNPs 10-100 мг/л содержание в листьях превышало содержание в корнях [261].

Внесение в почву AgNPs привело к активной аккумуляции серебра в корневой системе *Mentha spicata* L. Высокая биодоступность и поглотительная способность корней подтверждались значением коэффициента биологического накопления (КБК 3,8). Максимальное поглощение серебра корнями (27,1 мг/кг) было зафиксировано при

обработке 100 мг/л AgNPs, что на 8% превышало содержание металла в почве. Анализ распределения серебра по органам растения показал, что его концентрация в стеблях оставалась на контрольном уровне, тогда как в листьях возрастала в 1,5–2 раза. Низкий коэффициент транслокации ($KT < 1$) указывает на ограниченный перенос металла из корней в надземные части, что свидетельствует о функционировании корневой системы в качестве эффективного барьера, лимитирующего поступление серебра в побеги.

Полученные данные согласуются с литературными данными о преимущественном накоплении серебра в корнях *Arabidopsis thaliana* при минимальной его транслокации в побеги [293]. В то же время для *Calendula officinalis* L., было отмечено накопление серебра регистрируется во всех тканях растения, достигая максимальных концентраций именно в листьях и цветках [270].

Под действием CuNPs содержание меди в почве увеличилась в 2–6 раз (до 50,64 мг/кг, $r = 0,97$, $p < 0,05$). В корнях содержание металла возрастало в 1,5 и 2,2 раза при концентрациях CuNPs 50 и 100 мг/л соответственно ($r = 0,99$, $p < 0,05$), однако значения коэффициента биоконцентрации (КБК < 1) свидетельствовали о слабом переносе меди из почвы в корни.

Аналогичное дозозависимое увеличение наблюдалось и в стеблях, где содержание меди увеличилось на 18–32%. Напротив, содержание меди в листьях демонстрировало тенденцию к снижению на 18% и 25% при концентрациях CuNPs 5 и 50 мг/л соответственно. Низкие значения коэффициента транслокации корень–побеги ($KT < 1$) подтверждают ограниченный перенос меди в надземную часть. В то же время высокие значения КТ были отмечены для системы «лист–стебель» (1,8–3,2), что указывает на перераспределение меди внутри побегов и ее преимущественное накопление в листьях. Наблюдаемое снижение значений КБК и КТ при 50–100 мг/л CuNPs указывает на повышенную токсичность наночастиц. Это подавление поглощения и транслокации предполагает активацию барьерных механизмов на клеточном уровне для ограничения внутреннего транспорта меди.

Полученные данные согласуются с литературными сведениями о дозозависимом накоплении меди в корнях и почве при ограниченной транслокации в побеги [261], а также о значительном накоплении металла во всех тканях бобовых культур [310].

Влияние AuNPs на фотосинтетические пигменты характеризовалось одновременным увеличением содержания хлорофилла и подавлением накопления каротиноидов. Наблюдалась общая тенденция к дозозависимому снижению содержания каротиноидов до 45% при использовании 5 мг/л AuNPs. Однако с увеличением концентрации до 50 и 100 мг/л ингибирующий эффект ослабевал, а уменьшение

содержания составляло лишь 13% и 8% соответственно (рис.6.2). В противоположность этому, AuNPs оказывали стимулирующее действие на содержание хлорофилла. Максимальное увеличение (на 30% по сравнению с контролем) было отмечено при концентрации 5 мг/л. Более высокие дозы (50 и 100 мг/л) также способствовали повышению уровня хлорофилла, но это влияние проявлялось в меньшей степени (на 20%).

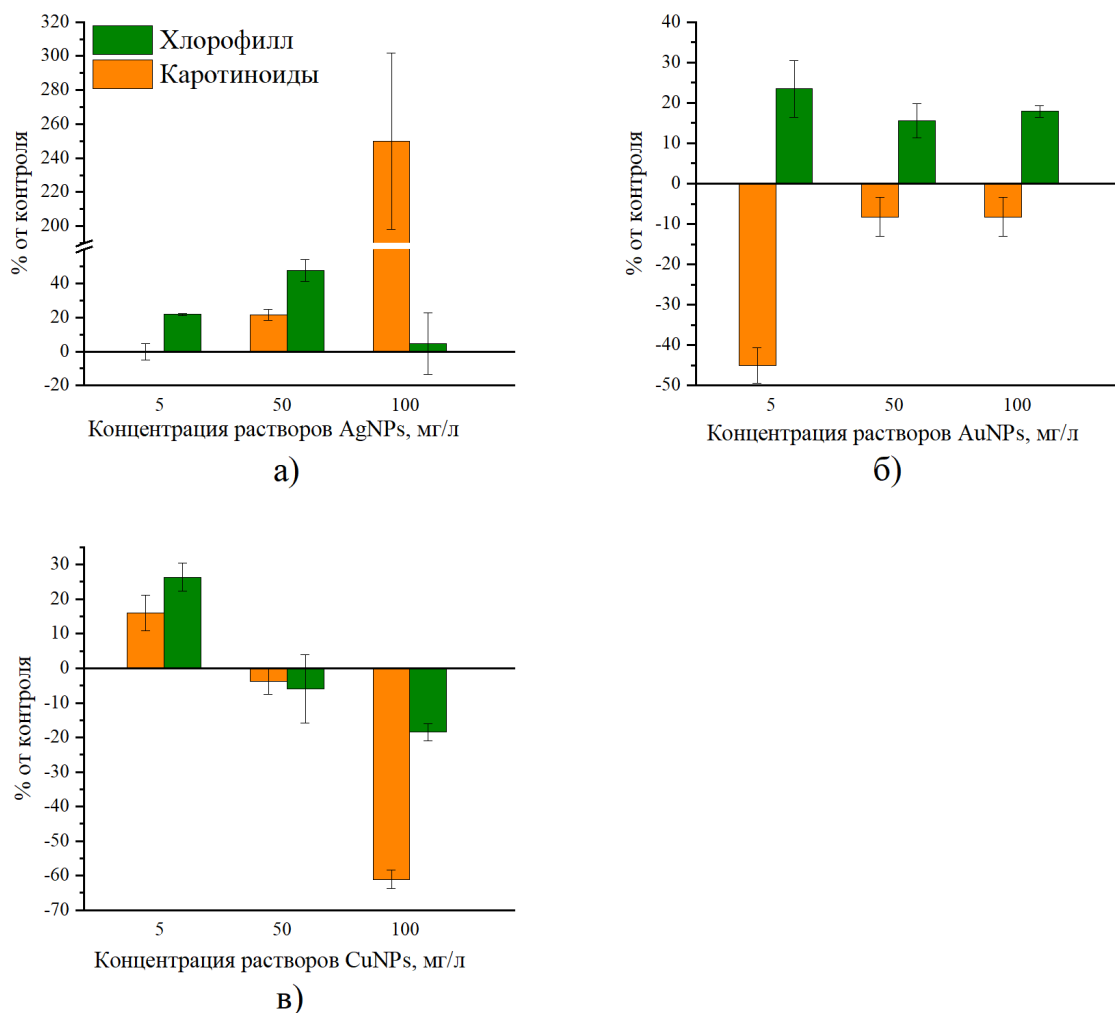


Рисунок 6.2. Изменение содержания каротиноидов и общего хлорофилла в надземных частях мяты колосистой, выращенной в полевых условиях и обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs относительно контроля

Обработка AuNPs вызывала повышение содержания аскорбиновой кислоты (АК) в 2,1–2,9 раза, с максимумом при концентрации 50 мг/л. Однако, на фоне максимального содержания АК, содержание глутатиона (GSH) снизилось на 42%, в то время как при концентрациях 5 и 100 мг/л его уровень, напротив, возрастал на 25% и 16% соответственно.

Полученные результаты указывают на активацию синтеза двух ключевых антиоксидантных компонентов АК и GSH в ответ на воздействие низкой концентрации наночастиц золота (5 мг/л). Однако при более высокой концентрации (50 мг/л) потребность в GSH для регенерации АК, по-видимому, истощила пул глутатиона. Кроме того,

увеличение концентрации AuNPs до 100 мг/л привело к накоплению золота в корнях и снижению его перемещения в надземную часть растений. Эта секвестрация, вероятно, смягчила окислительный стресс, тем самым снизив нагрузку на антиоксидантную систему и позволив частично восстановить уровень GSH. Тем не менее, содержание восстановленной АК оставалось выше, чем в контроле (рис.6.3).

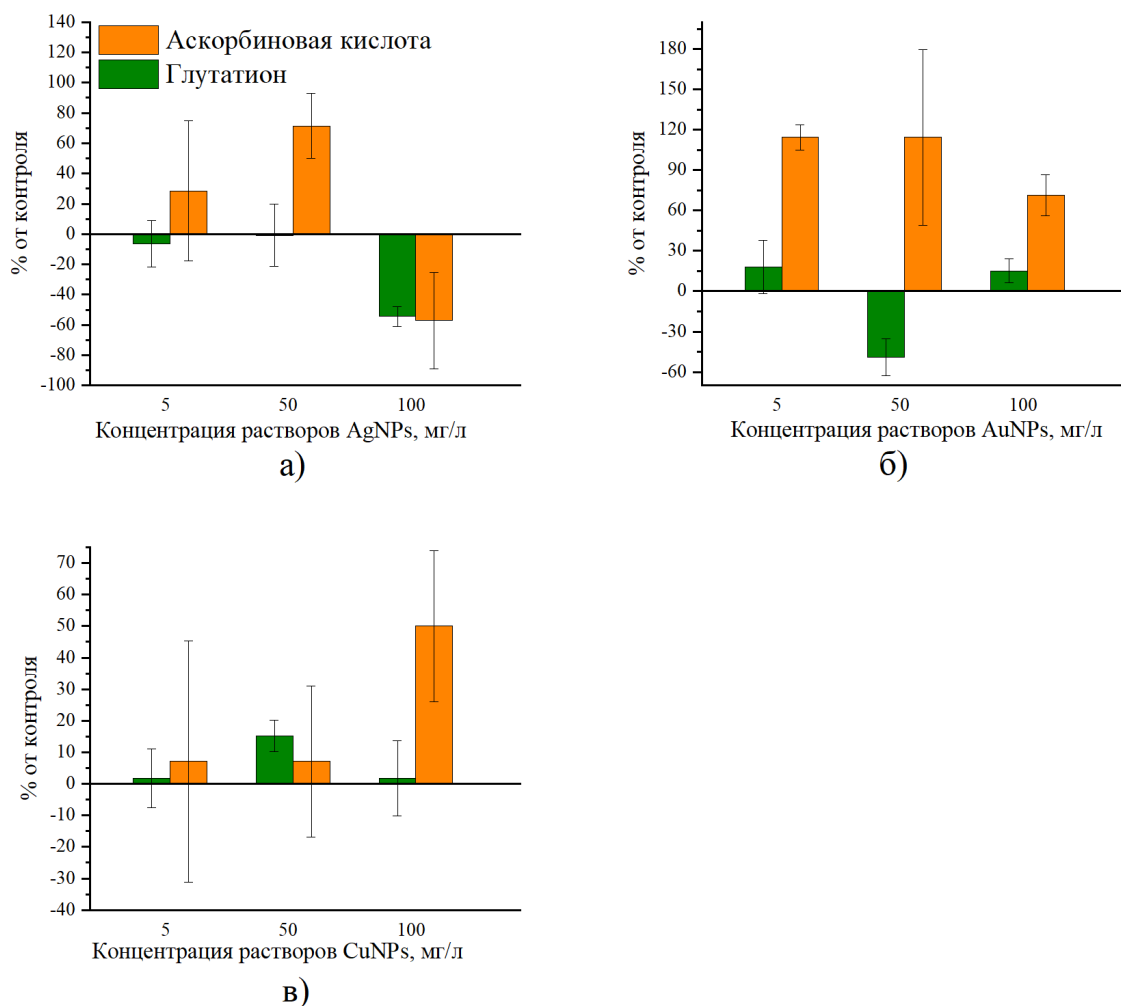


Рисунок 6.3. Изменение содержания аскорбиновой кислоты и глутатиона в надземных частях мяты колосистой, выращенной в полевых условиях и обработанной (а) AgNPs, (б) AuNPs и (в) CuNPs

При применении 5 и 100 мг/л AgNPs содержание каротиноидов практически не отличалось от контроля, однако при концентрации 50 мг/л наблюдалось увеличение на 22%. Напротив, содержание хлорофилла увеличилось на 22% при 5 и 100 мг/л, а максимальный стимулирующий эффект (увеличение на 54%) отмечался при концентрации 50 мг/л.

В других работах сообщалось о дозозависимом увеличении содержания хлорофилла у *Brassica juncea* с максимумом при концентрации AgNPs 50 ppm [333]. Однако, ряд исследователей отмечает ингибирующее действие AgNPs, так, у растений *Brassica sp.* отмечалось снижение содержания хлорофилла и каротиноидов [292]. Обработка AgNPs

приводила к снижению уровня хлорофилла, каротиноидов и общего белка у *Cucumis sativus* L. [334], а также к дозозависимому угнетению синтеза пигментов и активности ключевых антиоксидантных ферментов у сеянцев *Pennisetum glaucum* L. [335].

При 5 и 50 мг/л AgNPs наблюдалась активация синтеза АК (содержание возросло в 2,1 раза), а уровень глутатиона увеличился на 17 и 18% соответственно, по сравнению с контролем. При орошении мяты AgNPs 100 мг/л содержание АК соответствовало уровню контроля, а содержание GSH снизилось в 2,2 раза, что свидетельствует об угнетающем действии на защитную систему. Таким образом, AgNPs оказывали двойное воздействие на *Mentha spicata* L.: низкие концентрации стимулировали синтез пигментов и антиоксидантную активность, в то время как более высокие концентрации подавляли их, что указывает на индуцированный окислительный стресс.

Влияние CuNPs на фотосинтетическую систему *Mentha spicata* L. также, как и в случае воздействия AuNPs и AgNPs, зависело от концентрации. Стимулирующее действие было отмечено для CuNPs 5 мг/л, при этом содержание каротиноидов увеличилось на 16% и хлорофилла на 30%. Обработка раствором CuNPs 50 мг/л не вызывала значимых изменений, тогда как высокая доза (100 мг/л) приводило к снижению содержания пигментов. Так, уровень каротиноидов и хлорофилла был ниже на 61% и 15% соответственно. Проявление подавляющего действия коррелирует с повышенным накоплением меди в тканях *Mentha spicata* L. и согласуется с литературными данными о дозозависимом угнетении фотосинтетических пигментов у других видов растений [261,280]. Содержание аскорбиновой кислоты увеличилось в 1,5–2 раза (максимум при 100 мг/л), а глутатиона на 15,7%, 26% и 22,6% для обработок CuNPs 5, 50 и 100 мг/л соответственно. Стимуляция антиоксидантной системы указывает на важную роль в компенсации окислительного стресса, индуцированного CuNPs, даже при токсических концентрациях для фотосинтетического аппарата.

6.2. Накопление серебра и меди в почве и сегментах растений и влияние на биохимический состав *Vaccinium myrtillus* L. обработки AgNPs и CuNPs

Полевой эксперимент, где в качестве тест-объекта выступают растения черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.) проводили для оценки последствий однократного загрязнения почвы высокими концентрациями наночастиц серебра и меди в естественных условиях. Такой сценарий моделирует аварийное поступление или интенсивное применение НЧ, что важно для понимания их токсикологического потенциала.

Эксперимент проводился на участке смешанного леса на территории Объединенного института ядерных исследований, где растения в фазе цветения однократно обрабатывали растворами AgNPs и CuNPs в концентрациях 50, 100 и 200 мг/л. Спустя 60 дней с момента

внесения растворов НЧ проводили сбор образцов корней, листьев, стеблей и ягод. Поскольку растительная продукция составляет значительную часть рациона человека, аккумуляция НЧ в тканях растений представляет потенциальный риск для здоровья человека. Для оценки рисков было рассчитано суточное потребление ягод, а также коэффициент опасности.

Прикорневое орошение CuNPs привело к дозозависимому увеличению содержания меди в почве, достигая максимума 59,92 мг/кг при 200 мг/л CuNPs (рис.6.4). Аналогичная тенденция наблюдалась в корнях растений: содержание меди увеличилось с 8,9 до 14,1 мг/кг, что в 1,6–2,5 раза превышало контрольные значения. Выявлена прямая корреляция между содержанием меди в корнях и почве ($r = 0,97$; $p < 0,005$), при этом в надземных частях экспериментальных растений содержание меди было ниже контроля, что согласуется с другими исследованиями. Расчетные значения КБК и КТ (таблица 6.2.) свидетельствуют о низком поглощении меди растениями из почвы ($\text{КБК} < 1$) и ее ограниченном перемещении между сегментами. Однако, ягоды, собранные с растений черники, поливаемых CuNPs в концентрации 200 мг/л, содержали на 34% больше меди, чем ягоды контрольной группы, при этом растения, которые были обработаны 50 и 100 мг/л CuNPs не достигли этапа плодоношения.

При воздействии 200 мг/л AgNPs содержание серебра в почве составляло 191 мг/кг, в то время как в контрольной почве и почве, обработанной 50 и 100 мг/л, серебро не было обнаружено. В корнях экспериментальных растений его содержание увеличивалось с 0,7 мг/кг (при 50 мг/л) до 6,3 мг/кг (при 200 мг/л). В листьях и стеблях серебро также не детектировалось, за исключением стеблей растений, обработанных 200 мг/л AgNPs (Рис.6.4). Однако дозозависимое увеличение серебра было отмечено в ягодах, достигая 14,72 мг/кг при обработке AgNPs в максимальной концентрации. Рассчитанные коэффициенты транслокации ($\text{КТ} > 1$) указывают на активный транспорт серебра из корней в ягоды.

Согласно литературным данным, возможность прохождения AgNPs через клеточную стенку зависит от их размера. Мелкие частицы транспортируются через естественные поры, однако AgNPs также способны модифицировать клеточную стенку, индуцируя образование более крупных пор, создавая таким образом условия для проникновения и более крупных частиц [160,295]. Geisler-Lee и соавторы [336] продемонстрировали поглощение корнями *Arabidopsis thaliana* наночастиц серебра размером 20 нм и их последующий транспорт по всему растению.

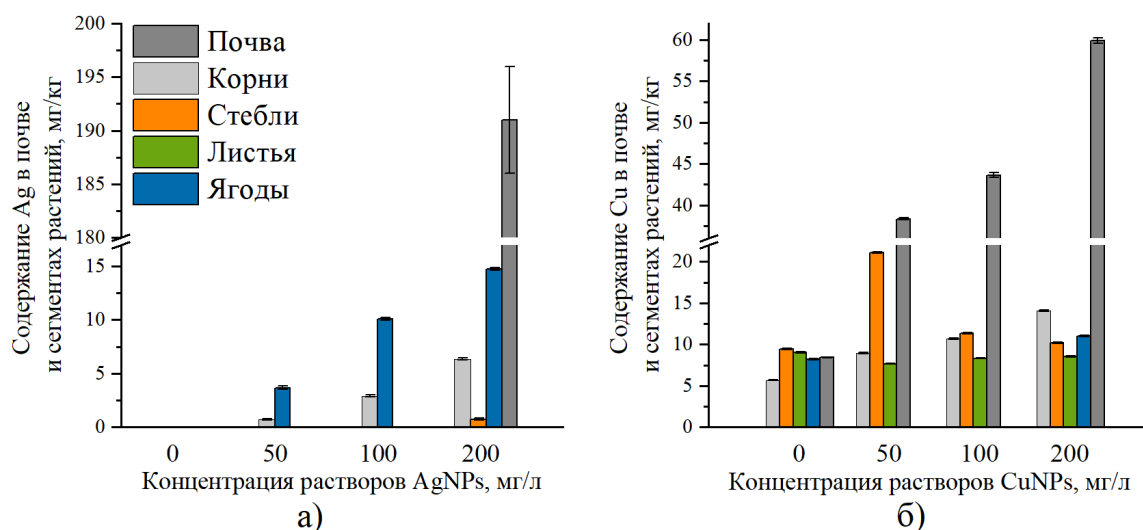


Рисунок 6.4. Содержание серебра и меди в почве и сегментах черники обыкновенной, подверженной обработке (а) AgNPs и (б) CuNPs.

Таблица 6.2. Коэффициенты транслокации и биоконцентрации (для сегментов черники обыкновенной, обработанной AgNPs и CuNPs прикорневым способом.

КБК (Cu)					
Конц. растворов НЧ, мг/л	Корни	Стебли	Листья	Ягоды	
0	0,67	1,13	1,07	0,97	
50	0,23	0,55	0,20	-	
100	0,24	0,26	0,19	-	
200	0,24	0,17	0,14	0,18	
КБК (Ag)					
0	-	-	-	-	
50	-	-	-	-	
100	-	-	-	-	
200	0,03	0,004	-	0,08	
	Стебли/Корни	Листья/Корни	Ягоды/Корни	Листья/Стебли	Ягоды/Стебли
Ягоды/Листья					
КТ (Cu)					
0	1,67	1,59	1,45	0,95	0,86
50	2,36	0,86	-	0,36	-

100	1,06	0,78	-	0,79	-	-
200	0,72	0,61	0,78	0,84	1,08	1,29
КТ (Ag)						
0	-	-	-	-	-	-
50	-	-	5,32	-	-	-
100	-	-	3,46	-	-	-
200	0,12	-	2,32	-	19,84	-

Данные, полученные при орошении кустарничков черники растворами CuNPs сопоставимы с другими исследованиями, например, Kohatsu и соавторы [284] показали, что ни одна из форм меди (CuNPs или CuSO₄), внесенных в почву, не накапливалась в листьях салата. Xiao и соавторы [51] отметили, что содержание меди в корнях сои, выращенной в присутствии CuNPs (10–30 нм), было значительно выше, чем в остальных сегментах. Дозозависимое накопление меди в корневой системе и низкая ее транслокация в листья были отмечены в экспериментах с *Petroselinum crispum* L. [261], *Mentha spicata* L. [271].

Оба типа НЧ вызывали достоверное увеличение содержания каротиноидов, в то время как уровень хлорофилла возрастал либо оставался на контрольном уровне (Рис.6.5). Наибольший стимулирующий эффект на содержание пигментов наблюдался при концентрации CuNPs 50 мг/л, при которой общее содержание хлорофилла превышало контрольный уровень на 13,1% ($p \leq 0,1$), а содержание каротиноидов - на 27,7% ($p \leq 0,01$). При максимальной концентрации CuNPs (200 мг/л) уровень хлорофилла не отличался от контроля, а содержание каротиноидов было выше на 10,9%.

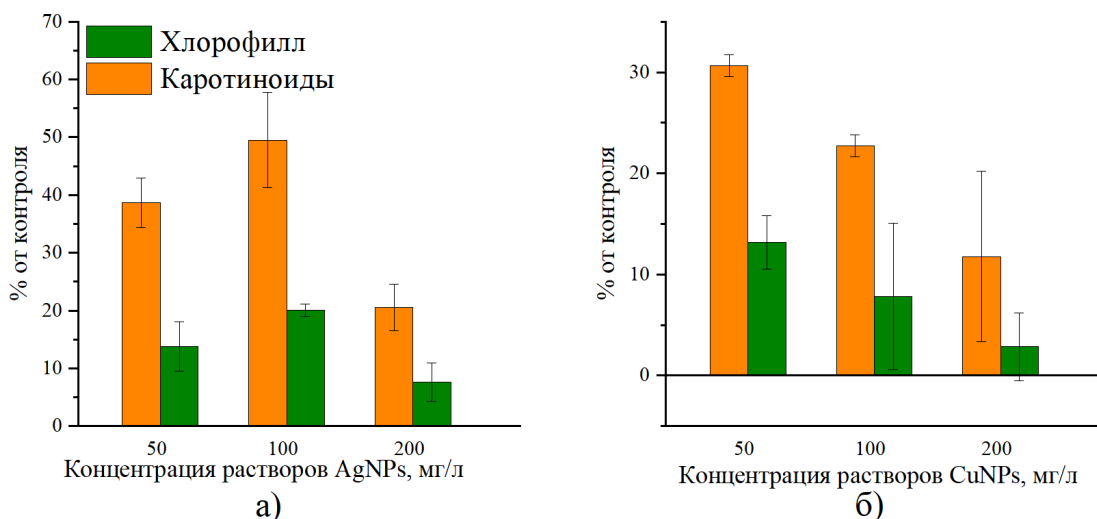


Рисунок 6.5. Изменение содержания хлорофилла и каротиноидов в листьях черники обыкновенной, обработанной растворами (а) AgNPs и (б) CuNPs

Обработка AgNPs во всех случаях приводила к статистически значимому увеличению содержания пигментов: общее содержание хлорофилла возрастало на 17,5-20,0%, а содержание каротиноидов - на 19,1-47,7% относительно контрольных значений, при этом наибольшее стимулирующее действие оказывала AgNPs 100 мг/л.

Антирадикальная активность экстрактов листьев, обработанных CuNPs и AgNPs, в тестах с DPPH и ABTS была достоверно выше контрольной (рис.6.6). Для CuNPs ингибирование радикала ABTS при всех концентрациях было сопоставимым и превышало контроль на 38,0–46,9% ($p \leq 0,001$). Активность против DPPH увеличивалась только при концентрациях 50 и 100 мг/л (на 27,4% и 18,3% соответственно). Содержание МДА как при обработке AgNPs (27,9-62,8%), так и при CuNPs (16,8-39,8%) дозозависимо возрастало с увеличением концентрации растворов по сравнению с контролем, свидетельствуя о наличии окислительного стресса у обработанных растений (Рис.6.7).

В случае AgNPs антирадикальная активность возрастала при всех концентрациях: на 15,9–65,7% для DPPH и на 32,9–103,7% для ABTS, достигая максимума при 100 и 200 мг/л. Динамика изменения содержания фенольных соединений соответствовала выявленной антирадикальной активности (Рис.6.8). Максимальное увеличение содержания фенолов на 26,8% было отмечено при воздействии 50 мг/л CuNPs ($p \leq 0,001$). Обработка AgNPs в концентрациях 100 и 200 мг/л приводила к повышению содержания фенолов на 82,7% и 57,1% соответственно ($p \leq 0,001$).

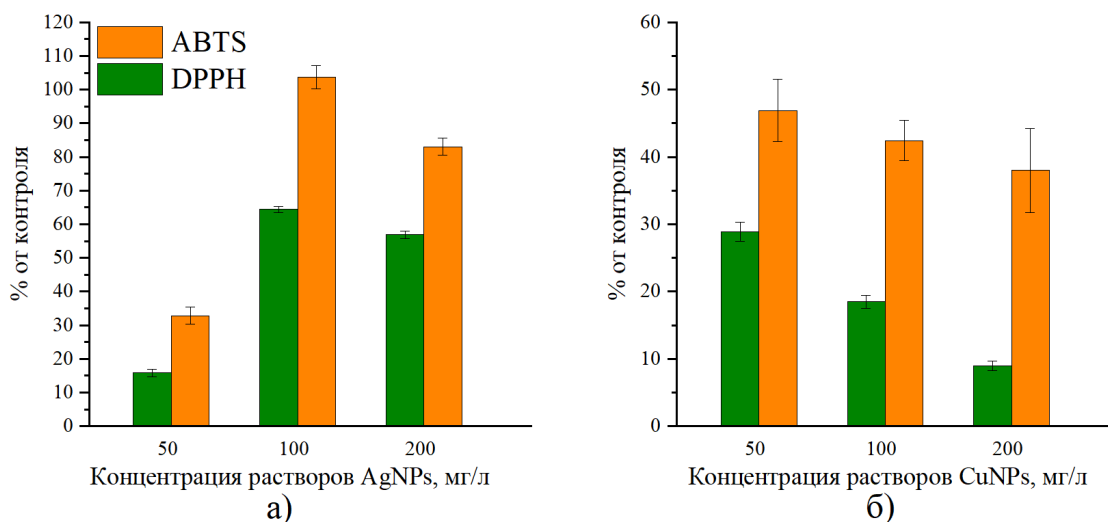


Рисунок 6.6. Изменение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из листьев черники обыкновенной, обработанной (а) AgNPs и (б) CuNPs

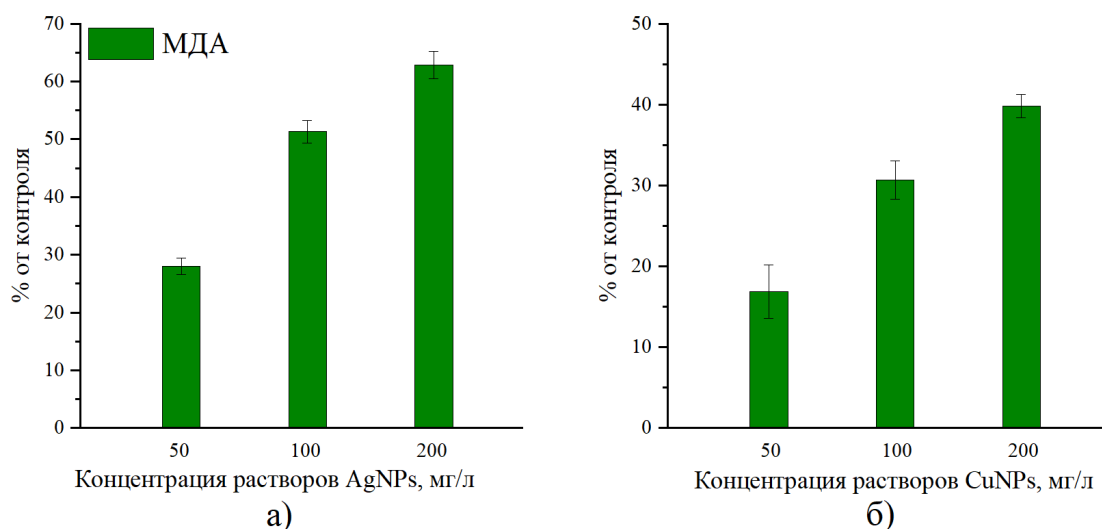


Рисунок 6.7. Измерение содержание малонового диальдегида в листьях черники (а) AgNPs и (б) CuNPs

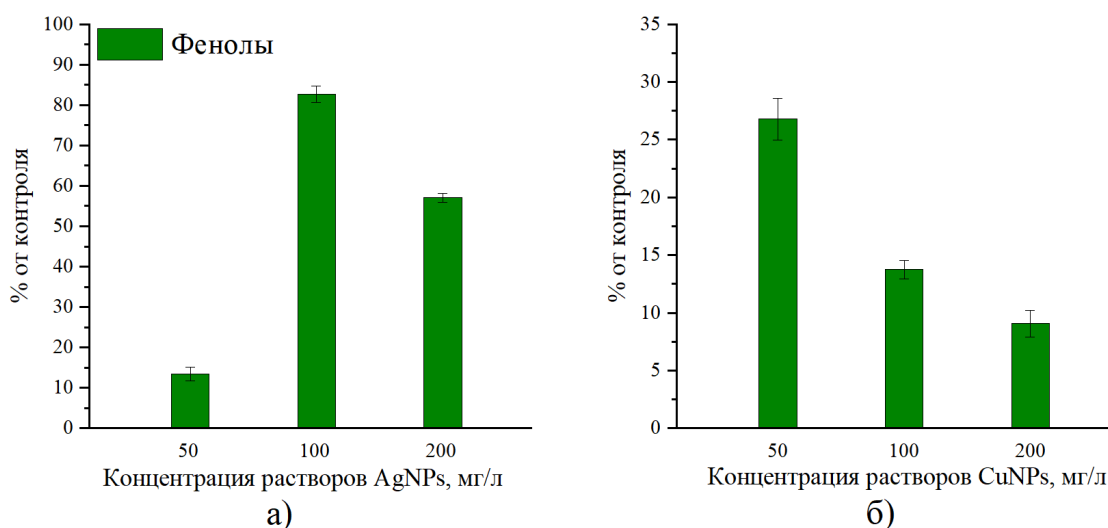


Рисунок 6.8. Изменение содержания фенолов в листьях черники (а) AgNPs и (б) CuNPs

Для оценки рисков для здоровья человека были рассчитаны показатели ОСД и КО для нескольких сценариев потребления. Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения, ежедневное потребление фруктов и овощей должно составлять не менее 400 г [337,338]. В Европейском Союзе рекомендуемая доза для медицинского применения 15-60 г сушеной черники в день при симптоматическом лечении легкой диареи или около 75-270 г свежей черники при симптомах дискомфорта и тяжесть ног, связанная с незначительными нарушениями венозного кровообращения [244]. Согласно данным, приведенным в [339] употребление черники жителями Мурманской области составляет около 12,2 кг свежих ягод в год, при употреблении ягод 1 раз в 3 дня.

В настоящем исследовании было принято, что ягоды составляют 1/5 (80 г) от общего потребления фруктов и овощей в день, а для Мурманской области среднее значение составило 33,4 г черники в день (табл.6.3).

Таблица 6.3. Расчетные значения ОСД и КО при употреблении ягод черники, обработанных AgNPs и CuNPs.

Конц. растворов НЧ, мг/л		ОСД		КО		Содержание в ягодах, мг/кг
		33,4 г	80 г	33,4 г	80 г	
Cu	0	0,0039	0,0094	0,1	0,23	8,21
	200	0,005	0,0126	0,13	0,31	11,01
	50	0,002	0,0042	0,35	0,84	3,67
Ag	100	0,005	0,0115	0,96	2,30	10,07
	200	0,007	0,0168	1,40	3,36	14,72

Наблюдалась прямая зависимость между содержанием меди или серебра в ягодах и величиной ОСД. Во всех исследованных вариантах обработки значения коэффициента опасности были ниже единицы, что свидетельствует об отсутствии значительного риска для здоровья. Исключение составили ягоды, обработанные AgNPs в концентрациях 100 и 200 мг/л (КО>1), что указывает на потенциальную опасность для здоровья человека при регулярном употреблении ягод, содержащих серебро.

6.3. Выводы к ГЛАВЕ 6

1. Полевой эксперимент, основанный на внесении CuNPs, AgNPs и CuNPs в прикорневую часть *Mentha spicata* L. подтвердил, что корневая система служит эффективным барьером, ограничивающим транслокацию металлов в надземную биомассу. Несмотря на значительное дозозависимое накопление золота, серебра и меди в почве и корневой системе, статистически значимого увеличения в листьях не наблюдалось (несмотря на то, что содержание серебра в листьях увеличилось в 1,5-2 раза по сравнению с контролем). Это свидетельствует о низкой подвижности данных металлов в системе «почва-растение» в полевых условиях и указывает на потенциально низкий риск их попадания в пищевую цепь через надземные части растений в случае однократного применения растворов НЧ.

2. Растворы AuNPs и AgNPs оказали стимулирующее действие на содержание хлорофилла (до 54%) и аскорбиновой кислоты, при этом подавляя синтез каротиноидов (до 45%). При этом, низкие концентрации CuNPs стимулировали синтез пигментов на 16–30%

и усиливали выработку антиоксидантов, однако высокая концентрация (100 мг/л) оказала ингибирующее действие. Полученные данные могут служить основой для разработки безопасных и эффективных рекомендаций применения НЧ в качестве нанодобровений.

3. Однократное прикорневое внесение CuNPs и AgNPs привело к дозозависимому накоплению меди и серебра в почве и корневой системе *Vaccinium myrtillus* L. Медь демонстрировала низкую подвижность, преимущественно аккумулируясь в корнях. При этом серебро активно транслоцировалось в надземные части черники, что подтверждается значительным накоплением серебра в ягодах (до 14,72 мг/кг при концентрации AgNPs 200 мг/л).

4. Обработка растворами CuNPs и AgNPs приводила увеличению содержания фотосинтетических пигментов, фенольных соединений, а также повышению антирадикальной активности растительных экстрактов в тестах DPPH и ABTS. Полученные данные свидетельствуют об активации наночастицами защитных реакций растений, что способствует повышению устойчивости растений к стрессам и питательной ценности растительной продукции.

5. Расчетные показатели суточного поступления и коэффициента опасности для меди во были ниже пороговых значений, указывая на отсутствие риска для здоровья человека. Однако для плодов, содержащих серебро (более 10,07 мг/кг), значения коэффициента опасности свидетельствуют о возникновении возможных неблагоприятных эффектов для здоровья человека при регулярном потреблении загрязненных ягод.

6. В целом, результаты полевых исследований подтверждают, что однократное внесение наночастиц в умеренных концентрациях может индуцировать адаптивные физиолого-биохимические реакции растений без существенного увеличения риска для потребителя. Однако при высоких концентрациях AgNPs возможно накопление серебра в съедобных органах, что требует строгого контроля доз и дальнейшей токсикологической оценки.

Представленные в данной главе результаты и выводы были опубликованы в рецензируемых журналах, индексируемых в WoS и Scopus [340-341].

ВЫВОДЫ И РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные в работе результаты подтвердили научную гипотезу и показали, что характер накопления и транслокации Ag, Au и Cu в системе «почва-растение» определяется типом НЧ, способом их внесения, концентрацией и видовыми особенностями растений. При прикорневом орошении корневая система выступает эффективным барьером: аккумуляция Ag, Au и Cu в основном происходит в почве и корнях. Однако выявлена избирательная транслокация: Ag активно накапливается в листьях *Mentha spicata* L. и ягодах *Vaccinium myrtillus* L., Au - в листьях *Calendula officinalis* L., а Cu - в цветках. Листовая обработка AgNPs, AuNPs и CuNPs индуцирует процесс обратной транслокации: Ag, Au и Cu не только накапливаются в надземной биомассе, но и перемещаются в корневую систему с последующим высвобождением в ризосферную почву, создавая риск вторичного загрязнения агроэкосистем.

2. Воздействие AgNPs, AuNPs и CuNPs на фотосинтетический аппарат и антиоксидантную систему носит дозозависимый и видоспецифичный характер. Низкие концентрации НЧ (1–10 мг/л), как правило, стимулируют синтез фотосинтетических пигментов и способствуют увеличению антиоксидантной активности, индуцируя защитные механизмы растений. Более высокие концентрации НЧ (50–100 мг/л) приводят к ингибированию этих процессов. При этом, для AgNPs, несмотря на стимулирующие эффекты на фотосинтетическую систему и выработку антиоксидантов, зафиксированы морфологические нарушения (ингибирование цветения, деформация листьев и стеблей).

3. Долгосрочное воздействие НЧ металлов приводит к угнетению активности почвенных микробных сообществ. Наибольшее ингибирующее действие оказывают AgNPs и CuNPs, вызывая устойчивое снижение скорости дыхания почвы (до 73% относительно контроля), что может нарушать биогеохимические циклы. Влияние AuNPs на почвенную микробиоту варьирует от кратковременной стимуляции до последующего ингибирования почвенного дыхания, что требует дальнейшего изучения состава микробных сообществ.

4. Способность НЧ к транслокации в съедобные части растений подтверждена для всех исследуемых видов растений. Наибольшую опасность представляет AgNPs: содержание Ag в ягодах черники достигало 14,72 мг/кг, а в листьях мяты 140,4 мг/кг. Регулярное употребление продукции с содержанием Ag выше 10,07 мг/кг сопряжено с риском развития неблагоприятных эффектов. Листовая обработка обуславливает значительно более высокую степень экстракции металлов в травяные настои по сравнению с корневой, что должно учитываться при разработке нормативов. Обоснована необходимость установления отдельных референтных доз и предельно допустимых уровней для наноразмерных форм металлов в пищевой продукции.

5. Прикорневая обработка растворами AgNPs, AuNPs и CuNPs в полевых условиях подтвердила барьерную функцию корневой системы, ограничивающую транслокацию металлов. Для *Mentha spicata* L. характерна низкая подвижность Ag, Au и Cu в системе «почва-растение» при однократном внесении. Однако для *Vaccinium myrtillus* L. выявлена видоспецифичность: серебро активно транслоцируется в ягоды, что свидетельствует о более высоком риске для потребителей. Умеренные концентрации наночастиц в полевых условиях индуцируют адаптивные реакции, повышая устойчивость растений и питательную ценность продукции.

6. Совокупность полученных данных свидетельствует о двойственном характере воздействия НЧ металлов на агроэкосистемы. Низкие концентрации (1–10 мг/л) могут рассматриваться в качестве перспективных агротехнологических агентов, улучшающих физиологическое состояние растений. Однако присутствие НЧ в системе сопряжено с санитарно-экологическими рисками: токсическое действие на почвенную микробиоту, потенциальное вторичное загрязнение почв и возможность переноса в трофические сети. Строгий контроль применяемых доз и учет видовых особенностей культур являются обязательными условиями для предотвращения негативных последствий.

Личный вклад. Автором разработана экспериментальная схема исследования взаимодействия наночастиц Ag, Au и Cu с системой «почва–почвенная микробиота–растения»; проведены лабораторные и полевые эксперименты по изучению накопления и транслокации металлических наночастиц в растениях; выполнены биохимические анализы растительных образцов и оценка функциональной активности почвенной микробиоты; проведена оценка рисков трофического переноса наночастиц металлов при употреблении растительной продукции; выполнена статистическая обработка результатов и их интерпретация. Автором подготовлены и отредактированы финальные версии научных статей по результатам проведенных исследований, осуществлена их подача в научные журналы и ведена научная переписка с редакциями на всех этапах рецензирования и публикации. Все эти действия выполнялись автором самостоятельно при научном консультировании, контроле и регулярном обсуждении полученных результатов с научным руководителем и комиссией по руководству.

Решение важной научной задачи, связанной с оценкой экологических последствий применения AgNPs, AuNPs и CuNPs в сельскохозяйственных целях, достигнуто путем установления видоспецифичных закономерностей накопления и транслокации Ag, Au и Cu в системе «почва-растение», зависящих от типа НЧ, их концентрации и способа внесения.

Экспериментально установлены концентрационные интервалы (1–10 мг/л) и способы внесения наночастиц, оказывающие стимулирующее действие на физиолого-

биохимические параметры для каждого из исследованных видов растений. Определены пороговые уровни воздействия, при которых возникают негативные эффекты в отношении растений, почвенной микробиоты и потенциальные риски для здоровья человека.

С практической точки зрения, выявленные концентрационные интервалы и методы внесения НЧ могут быть использованы при разработке экологически безопасных агротехнологий и биостимуляторов. Установленные пороговые уровни воздействия позволяют минимизировать риски загрязнения сельскохозяйственной продукции и почвенной микробиоты, а также обосновывают необходимость разработки нормативов для наноразмерных форм металлов в пищевой продукции.

Научные результаты по теме диссертации были опубликованы в 9 статьях в индексированных базах данных WoS и Scopus, и представлены на следующих национальных и международных научных конференциях: Technical Scientific Conference Of Undergraduate, Master And Phd Students (Chişinău, Republic of Moldova April 5-7, 2023); 29th International Seminar on Interaction of Neutrons with Nuclei: «Fundamental Interactions & Neutrons, Nuclear Structure, Ultracold Neutrons, Related Topics» (Dubna, Russia, May 29-June 2, 2023); The National Conference with international participation «National Sciences In The Dialogue Of Generations» (Chişinău, September, Republic of Moldova 14-15, 2023); The XXVII International Scientific Conference of Young Scientists and Specialists (Dubna, Russia, 30 October - 3 November 2023); The National Conference with international participation «National Sciences In The Dialogue Of Generations» (Chişinău, September, Republic of Moldova 12-13, 2024); 28th International Scientific Conference of Young Scientists and Specialists (Dubna, Russia, 28 October - 1 November 2024); 31th International Seminar on Interaction of Neutrons with Nuclei (Dongguan, China, May 26-30, 2025); The National Conference with international participation «National Sciences In The Dialogue Of Generations» (Chisinau, Republic of Moldova, September 17–19, 2025); 29th International Scientific Conference of Young Scientists and Specialists (Dubna, Russia, 27 October - 31 October 2025).

Ограничения исследования. Следует отметить, что проведенные исследования охватывают ограниченное число видов растений и типов металлических наночастиц. Полученные результаты характеризуют поведение наночастиц преимущественно в условиях лабораторных экспериментов и краткосрочного воздействия, что требует дальнейшего изучения долгосрочных эффектов и процессов трансформации наночастиц в природных экосистемах.

Практические рекомендации:

1. В качестве биостимуляторов целесообразно применение AuNPs, AgNPs и CuNPs в концентрациях, не превышающих 10 мг/л. Выбор способа внесения и типа

наночастиц необходимо осуществлять с учетом целевого назначения растительной продукции и потенциальных экологических рисков.

2. С целью обеспечения безопасности продовольственного сырья и пищевой продукции рекомендуется проводить контроль содержания наночастиц металлов в съедобных частях растений.

3. Для предотвращения деградации почвенных микробиоценозов при применении НЧ в агроэкосистемах следует ограничивать использование AgNPs и CuNPs, характеризующихся наиболее выраженным ингибирующим воздействием для почвенной микробиоты.

4. Необходима разработка и установление отдельных нормативов и референтных доз для наноразмерных форм металлов в пищевой продукции с учетом их повышенной биодоступности.

Предложения для будущих исследований:

1. Необходимо изучение механизмов транслокации НЧ металлов с различными типами поверхностных покрытий в тканях растений, а также выявление ключевых факторов, определяющих интенсивность и избирательность этих процессов.

2. Необходимы исследования комбинированного воздействия смесей НЧ металлов на растения и почвенную микробиоту, включая оценку синергетических и антагонистических эффектов в условиях, максимально приближенных к реальным агротехнологическим сценариям.

3. Требуется детальное изучение структурно-функциональных изменений почвенных микробных сообществ при длительном воздействии наночастиц металлов для прогнозирования нарушений почвенных процессов.

4. Необходимо проведение расширенных токсикологических исследований на лабораторных животных для установления референтных доз при хроническом поступлении наноразмерных форм металлов с растительной пищей.

5. Требуется проведение исследований закономерностей транслокации наночастиц металлов по трофическим цепям с учетом многообразия сельскохозяйственных культур, типов почв и консументов более высокого ранга для оценки экологических рисков.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. RUBILAR, O., RAI, M., TORTELLA, G., DIEZ, M. C., SEABRA, A. B., DURÁN, N. Biogenic Nanoparticles: Copper, Copper Oxides, Copper Sulphides, Complex Copper Nanostructures and Their Applications. In: *Biotechnology Letters*. 2013. vol. 35, nr. 9, pp. 1365–1375. Electronic ISSN: 1573-6776. Print ISSN: 0141-5492. DOI: 10.1007/S10529-013-1239-X.
2. GENEDY, M., KANDIL, U. F., MATTEO, E. N., STORMONT, J., TAHA, M. M. R. A New Polymer Nanocomposite Repair Material for Restoring Wellbore Seal Integrity. In: *International Journal of Greenhouse Gas Control*. 2017. vol. 58, pp. 290–298. Electronic ISSN: 1878-0148. Print ISSN: 1750-5836. DOI: 10.1016/j.ijggc.2016.10.006.
3. LI, Y., LIANG, J., TAO, Z., CHEN, J. Cuo Particles and Plates: Synthesis and Gas-Sensor Application. In: *Materials Research Bulletin*. 2008. vol. 43, nr. 8–9, pp. 2380–2385. Electronic ISSN: 1873-4227. Print ISSN: 0025-5408. DOI: 10.1016/j.materresbull.2007.07.045.
4. TAO, B., LIN, C., DENG, Y., YUAN, Z., et al. Copper-Nanoparticle-Embedded Hydrogel for Killing Bacteria and Promoting Wound Healing With Photothermal Therapy. In: *Journal of Materials Chemistry B*. 2019. vol. 7, nr. 15, pp. 2534–2548. Electronic ISSN: 2050-7518. Print ISSN: 2050-750X. DOI: 10.1039/C8TB03272F.
5. ZHANG, X., ZHANG, C., LIN, Y., HU, P., et al. Nanocomposite Membranes Enhance Bone Regeneration Through Restoring Physiological Electric Microenvironment. In: *ACS Nano*. 2016. vol. 10, nr. 8, pp. 7279–7286. Electronic ISSN: 1936-086X. Print ISSN: 1936-0851. DOI: 10.1021/acsnano.6b02247.
6. MUSA, M., PONNURAJ, K. T., MOHAMAD, D., RAHMAN, I. A. Genotoxicity Evaluation of Dental Restoration Nanocomposite Using Comet Assay and Chromosome Aberration Test. In: *Nanotechnology*. 2013. vol. 24, nr. 1. Electronic ISSN: 1361-6528. Print ISSN: 0957-4484. DOI: 10.1088/0957-4484/24/1/015105.
7. ALSHAMMARI, B. H., LASHIN, M. M. A., MAHMOOD, M. A., AL-MUBADDEL, F. S., et al. Organic and Inorganic Nanomaterials: Fabrication, Properties and Applications. In: *RSC Advances*. 2023. vol. 13, nr. 20, pp. 13735–13785. Electronic ISSN: 2046-2069. Print ISSN: 2046-2069. DOI: 10.1039/d3ra01421e.
8. STARK, W. J., STOESSEL, P. R., WOHLLEBEN, W., HAFNER, A., et al. Industrial Applications of Nanoparticles. In: *Chemical Society Reviews*. 2015. vol. 44, nr. 16, pp. 5793–5805. Electronic ISSN: 1460-4744. Print ISSN: 0306-0012. DOI: 10.1039/c4cs00362d.
9. GUPTA, V., MOHAPATRA, S., MISHRA, H., FAROOQ, U., et al. Nanotechnology in Cosmetics and Cosmeceuticals — A Review of Latest Advancements. In: *Gels*. 2022. vol. 8, nr. 153, pp. 1–31. Electronic ISSN: 2310-2861. Print ISSN: 2310-2861. DOI: 10.3390/gels8030173.
10. SANTOS, A. C., MORAIS, F., SIMÕES, A., PEREIRA, I., et al. Nanotechnology for the Development of New Cosmetic Formulations. In: *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2019. vol. 16, nr. 4, pp. 313–330. Electronic ISSN: 1744-7593. Print ISSN: 1742-5247. DOI: 10.1080/17425247.2019.1585426.
11. DHALL, S., NIGAM, A., HARSHAVARDHAN, M., MUKHERJEE, A., et al. A Comprehensive Overview of Methods Involved in Nanomaterial Production and Waste Disposal from Research Labs and Industries and Existing Regulatory Guidelines for Handling Engineered Nanomaterials. In: *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. 2024. vol. 6, pp. 269–282. Electronic ISSN: 2590-1826. Print ISSN: 2590-1826. DOI: 10.1016/j.enceco.2024.06.002.
12. NAZ, S., GUL, A., ZIA, M. Toxicity of Copper Oxide Nanoparticles: A Review Study. In: *IET Nanobiotechnology*. 2020. vol. 14, nr. 1, pp. 1–13. Electronic ISSN: 1751-875X. Print ISSN: 1751-8741. DOI: 10.1049/iet-nbt.2019.0176.
13. NONGBET, A., MISHRA, A. K., MOHANTA, Y. K., MAHANTA, S., et al. Nanofertilizers: A Smart and Sustainable Attribute to Modern Agriculture. In: *Plants*. 2022. vol.

- 11, nr. 19, pp. 1–20. Electronic ISSN: 2223-7747. Print ISSN: 2223-7747. DOI: 10.3390/plants11192587.
14. REN, G., HU, D., CHENG, E. W. C., VARGAS-REUS, M. A., et al. Characterisation of Copper Oxide Nanoparticles for Antimicrobial Applications. In: *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2009. vol. 33, nr. 6, pp. 587–590. Electronic ISSN: 1872-7913. Print ISSN: 0924-8579. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2008.12.004.
15. RAJPUT, V. D., MINKINA, T., SUSKOVA, S., MANDZHIEVA, S., et al. Effects of Copper Nanoparticles (CuO NPs) on Crop Plants: A Mini Review. In: *BioNanoScience*. 2018. vol. 8, nr. 1, pp. 36–42. Electronic ISSN: 2191-1649. Print ISSN: 2191-1630. DOI: 10.1007/s12668-017-0466-3.
16. CHAUHAN, D., AFREEN, S., TALREJA, N., ASHFAQ, M. Multifunctional Copper Polymer-Based Nanocomposite for Environmental and Agricultural Applications. In: *Multifunctional Hybrid Nanomaterials for Sustainable Agri-Food and Ecosystems*. Elsevier Inc., 2020, pp. 189–211. ISBN: 9780128213544.
17. BRAMHANWADE, K., SHENDE, S., BONDE, S., GADE, A., et al. Fungicidal Activity of Cu Nanoparticles Against Fusarium Causing Crop Diseases. In: *Environmental Chemistry Letters*. 2016. vol. 14, nr. 2, pp. 229–235. Electronic ISSN: 1610-3661. Print ISSN: 1610-3653. DOI: 10.1007/s10311-015-0543-1.
18. XU, V. W., NIZAMI, M. Z. I., YIN, I. X., YU, O. Y., et al. Application of Copper Nanoparticles in Dentistry. In: *Nanomaterials*. 2022. vol. 12, nr. 5, p. 805. Electronic ISSN: 2079-4991. Print ISSN: 2079-4991. DOI: 10.3390/nano12050805.
19. AL-HAKKANI, M. F. Biogenic Copper Nanoparticles and Their Applications: A Review. In: *SN Applied Sciences*. 2020. vol. 2, nr. 3, p. 505. Electronic ISSN: 2523-3971. Print ISSN: 2523-3963. DOI: 10.1007/s42452-020-2279-1.
20. CHHIPA, H. Nanofertilizers and Nanopesticides for Agriculture. In: *Environmental Chemistry Letters*. 2017. vol. 15, nr. 1, pp. 15–22. Electronic ISSN: 1610-3661. Print ISSN: 1610-3653. DOI: 10.1007/s10311-016-0600-4.
21. CRISAN, M. C., TEODORA, M., LUCIAN, M. Copper Nanoparticles: Synthesis and Characterization, Physiology, Toxicity and Antimicrobial Applications. In: *Applied Sciences*. 2021. vol. 12, nr. 1, p. 141. Electronic ISSN: 2076-3417. Print ISSN: 2076-3417. DOI: 10.3390/app12010141.
22. HARISHCHANDRA, B. D., PAPPUSWAMY, M., SHAMA, G., ARUMUGAM, V. A., et al. Copper Nanoparticles: A Review on Synthesis, Characterization and Applications. In: *Asian Pacific Journal of Cancer Biology*. 2020. vol. 5, nr. 4, pp. 201–210. Electronic ISSN: 2538-4635. DOI: 10.31557/apjcb.2020.5.4.201-210
23. ZHANG, Q., IWAKUMA, N., SHARMA, P., MOUDGIL, B. M., et al. Gold Nanoparticles as a Contrast Agent for In Vivo Tumor Imaging with Photoacoustic Tomography. In: *Nanotechnology*. 2009. vol. 20, nr. 39, p. 395102. Electronic ISSN: 1361-6528. Print ISSN: 0957-4484. DOI: 10.1088/0957-4484/20/39/395102.
24. ZHANG, M., SHAO, S., YUE, H., WANG, X., et al. High Stability Au NPs: From Design to Application in Nanomedicine. In: *International Journal of Nanomedicine*. 2021. vol. 16, pp. 6067–6094. Electronic ISSN: 1178-2013. Print ISSN: 1176-9114. DOI: 10.2147/IJN.S322900.
25. BAI, X., WANG, Y., SONG, Z., FENG, Y., et al. The Basic Properties of Gold Nanoparticles and Their Applications in Tumor Diagnosis and Treatment. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. vol. 21, nr. 7, p. 2480. Electronic ISSN: 1422-0067. Print ISSN: 1661-6596. DOI: 10.3390/ijms21072480.
26. KARNWAL, A., SAMIR, R., SACHAN, K., DEVGON, I., et al. Gold Nanoparticles in Nanobiotechnology: From Synthesis to Biosensing Applications. In: *ACS Omega*. 2024. vol. 9, nr.

- 28, pp. 29966–29982. Electronic ISSN: 2470-1343. Print ISSN: 2470-1343. DOI: 10.1021/acsomega.3c10352.
27. XU, L., WANG, Y. Y., HUANG, J., CHEN, C. Y., et al. Silver Nanoparticles: Synthesis, Medical Applications and Biosafety. In: *Theranostics*. 2020. vol. 10, nr. 20, pp. 8996–9031. Electronic ISSN: 1838-7640. Print ISSN: 1838-7640. DOI: 10.7150/thno.45413.28.
28. HAIDER, A., KANG, I. Preparation of Silver Nanoparticles and Their Industrial and Biomedical Applications: A Comprehensive Review. In: *Advances in Materials Science and Engineering*. 2015. vol. 2015, nr. 1, pp. 1–16. Electronic ISSN: 1687-8442. Print ISSN: 1687-8434. DOI: 10.1155/2015/165257.
29. PANZARINI, E., MARIANO, S., CARATA, E., MURA, F., et al. Intracellular Transport of Silver and Gold Nanoparticles and Biological Responses: An Update. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. vol. 19, nr. 5, p. 1305. Electronic ISSN: 1422-0067. Print ISSN: 1661-6596. DOI: 10.3390/ijms19051305.
30. SIMBINE, E. O., RODRIGUES, L. C., LAPA-GUIMARÃES, J., KAMIMURA, E. S., et al. Application of Silver Nanoparticles in Food Packages: A Review. In: *Food Science and Technology (Brazil)*. 2019. vol. 39, nr. 4, pp. 793–802. Electronic ISSN: 1678-457X. Print ISSN: 0101-2061. DOI: 10.1590/fst.36318.
31. GAJBHIYE, S., SAKHARWADE, S. Silver Nanoparticles in Cosmetics. In: *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*. 2016. vol. 6, nr. 2, pp. 48–53. Electronic ISSN: 2161-4512. Print ISSN: 2161-4105. DOI: 10.4236/jcdsa.2016.61007.
32. MONDAL, K. K., MANI, C. Investigation of the Antibacterial Properties of Nanocopper Against *Xanthomonas Axonopodis* pv. *punicae*, the Incitant of Pomegranate Bacterial Blight. In: *Annals of Microbiology*. 2012. vol. 62, nr. 2, pp. 889–893. Electronic ISSN: 1869-2044. Print ISSN: 1590-4261. DOI: 10.1007/s13213-011-0382-7.
33. JAVAID, A., HAMEED, S., LI, L., ZHANG, Z., et al. Can Nanotechnology and Genomics Innovations Trigger Agricultural Revolution and Sustainable Development? In: *Functional & Integrative Genomics*. 2024. vol. 24, nr. 6, p. 216. Electronic ISSN: 1438-7948. Print ISSN: 1438-793X. DOI: 10.1007/s10142-024-01485-x.
34. MEHMOOD, A. Brief Overview of the Application of Silver Nanoparticles to Improve Growth of Crop Plants. In: *IET Nanobiotechnology*. 2018. vol. 12, nr. 6, pp. 701–705. Electronic ISSN: 1751-875X. Print ISSN: 1751-8741. DOI: 10.1049/iet-nbt.2017.0273.
35. RIZWAN, M., ALI, S., QAYYUM, M. F., OK, Y. S., et al. Effect of Metal and Metal Oxide Nanoparticles on Growth and Physiology of Globally Important Food Crops: A Critical Review. In: *Journal of Hazardous Materials*. 2017. vol. 322, pp. 2–16. Electronic ISSN: 1873-3336. Print ISSN: 0304-3894. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.05.061.
36. KALE, S. K., PARISHWAD, G. V., HUSAINY, A. S. N., PATIL, A. S. Emerging Agriculture Applications of Silver Nanoparticles. In: *ES Food and Agroforestry*. 2021. vol. 3, pp. 17–22. Electronic ISSN: 2737-5492. DOI: 10.30919/esfaf438.
37. MALANDRAKIS, A. A., KAVROULAKIS, N., CHRYSIKOPOULOS, C. V. Use of Copper, Silver and Zinc Nanoparticles Against Foliar and Soil-Borne Plant Pathogens. In: *Science of the Total Environment*. 2019. vol. 670, pp. 292–299. Electronic ISSN: 1879-1026. Print ISSN: 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.03.210.
38. SALAMA, H. M. H., et al. Effects of Silver Nanoparticles in Some Crop Plants, Common Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) and Corn (*Zea Mays* L.). In: *International Research Journal of Biotechnology*. 2012. vol. 3, nr. 10, pp. 190–197. Electronic ISSN: 2141-5153. Print ISSN: 2141-5153.
39. ARORA, S., SHARMA, P., KUMAR, S., NAYAN, R., et al. Gold-Nanoparticle Induced Enhancement in Growth and Seed Yield of *Brassica Juncea*. In: *Plant Growth Regulation*. 2012.

- vol. 66, nr. 3, pp. 303–310. Electronic ISSN: 1573-5087. Print ISSN: 0167-6903. DOI: 10.1007/s10725-011-9649-z.
40. KLAINE, S. J., ALVAREZ, P. J. J., BATLEY, G. E., FERNANDES, T. F., et al. Nanomaterials in the Environment: Behavior, Fate, Bioavailability, and Effects. In: *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2008. vol. 27, nr. 9, pp. 1825–1851. Electronic ISSN: 1552-8618. Print ISSN: 0730-7268. DOI: 10.1897/08-090.1.
41. KELLER, A. A., MCFERRAN, S., LAZAREVA, A., SUH, S. Global Life Cycle Releases of Engineered Nanomaterials. In: *Journal of Nanoparticle Research*. 2013. vol. 15, nr. 6, p. 1692. Electronic ISSN: 1572-896X. Print ISSN: 1388-0764. DOI: 10.1007/s11051-013-1692-4.
42. KELLER, A. A., LAZAREVA, A. Predicted Releases of Engineered Nanomaterials: From Global to Regional to Local. In: *Environmental Science and Technology Letters*. 2013. vol. 1, nr. 1, pp. 65–70. Electronic ISSN: 2328-8930. Print ISSN: 2328-8930. DOI: 10.1021/ez400106t.
43. KELLER, A. A., ADELEYE, A. S., CONWAY, J. R., GARNER, K. L., et al. Comparative Environmental Fate and Toxicity of Copper Nanomaterials. In: *NanoImpact*. 2017. vol. 7, pp. 28–40. Electronic ISSN: 2452-0748. Print ISSN: 2452-0748. DOI: 10.1016/j.impact.2017.05.003.
44. MUSIAL, J., KRAKOWIAK, R., MLYNARCZYK, D. T., GOSLINSKI, T., et al. Titanium Dioxide Nanoparticles in Food and Personal Care Products—What Do We Know About Their Safety? In: *Nanomaterials*. 2020. vol. 10, nr. 6, pp. 1–23. Electronic ISSN: 2079-4991. Print ISSN: 2079-4991. DOI: 10.3390/nano10061110.
45. SRIVASTAVA, V., GUSAIN, D., SHARMA, Y. C. Critical Review on the Toxicity of Some Widely Used Engineered Nanoparticles. In: *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 2015. vol. 54, nr. 24, pp. 6209–6233. Electronic ISSN: 1520-5045. Print ISSN: 0888-5885. DOI: 10.1021/acs.iecr.5b01610.
46. GIESE, B., KLAESSIG, F., PARK, B., KAEGI, R., et al. Risks, Release and Concentrations of Engineered Nanomaterial in the Environment. In: *Scientific Reports*. 2018. vol. 8, nr. 1, pp. 1–18. Electronic ISSN: 2045-2322. Print ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-018-19275-4.
47. GAO, Y. P., YANG, Y., LI, L., WEI, W. J., et al. Quantitative Detection of Gold Nanoparticles in Soil and Sediment. In: *Analytica Chimica Acta*. 2020. vol. 1110, pp. 72–81. Electronic ISSN: 1873-4324. Print ISSN: 0003-2670. DOI: 10.1016/j.aca.2020.03.005.
48. GOTTSCHALK, F., SONDERER, T., SCHOLZ, R. W., NOWACK, B. Modeled Environmental Concentrations of Engineered Nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for Different Regions. In: *Environmental Science and Technology*. 2009. vol. 43, nr. 24, pp. 9216–9222. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/es9015553.
49. BAKSHI, M., KUMAR, A. Copper-Based Nanoparticles in the Soil-Plant Environment: Assessing Their Applications, Interactions, Fate and Toxicity. In: *Chemosphere*. 2021. vol. 281, p. 130940. Electronic ISSN: 1879-1298. Print ISSN: 0045-6535. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.130940.
50. KUMAR, N., SHAH, V., WALKER, V. K. Perturbation of an Arctic Soil Microbial Community by Metal Nanoparticles. In: *Journal of Hazardous Materials*. 2011. vol. 190, nr. 1–3, pp. 816–822. Electronic ISSN: 1873-3336. Print ISSN: 0304-3894. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2011.04.005.
51. VANDEVOORT, A. R., ARAI, Y. Macroscopic Observation of Soil Nitrification Kinetics Impacted by Copper Nanoparticles: Implications for Micronutrient Nanofertilizer. In: *Nanomaterials*. 2018. vol. 8, nr. 11, p. 927. Electronic ISSN: 2079-4991. Print ISSN: 2079-4991. DOI: 10.3390/nano8110927.
52. CHEN, Z., GAO, S., JIN, M., SUN, S., et al. Physiological and Transcriptomic Analyses Reveal CuO Nanoparticle Inhibition of Anabolic and Catabolic Activities of Sulfate-Reducing

- Bacterium. In: *Environment International*. 2019. vol. 125, pp. 65–74. Electronic ISSN: 1873-6750. Print ISSN: 0160-4120. DOI: 10.1016/j.envint.2019.01.058.
53. WEBER, K. P., PETERSEN, E. J., BISSEGGGER, S., KOCH, I., et al. Effect of Gold Nanoparticles and Ciprofloxacin on Microbial Catabolism: A Community-Based Approach. In: *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2014. vol. 33, nr. 1, pp. 44–51. Electronic ISSN: 1552-8618. Print ISSN: 0730-7268. DOI: 10.1002/etc.2393.
54. БАТЫР, Л., СЛАНИНА, В. Влияние Наночастиц Железа На Рост И Развития Почвенных Бактерий. In: *World Science: Problems And Innovations: сборник статей XXX*. 2019. pp. 20–22. ISBN 978-5-00159-158-0. DOI: 10.1126/science.263.5151.1220-с.
55. СЕПОИ, L., RUDI, L., CHIRIAC, T., MISCU, V., et al. Malondialdehyde - A Potential Marker of Nanoparticle Toxicity in an Aquatic Environment. In: *One Health & Risk Management*. 2020. vol. 1, nr. 1, pp. 64–71. Electronic ISSN: 2587-3466. Print ISSN: 2587-3458. DOI: 10.38045/ohrm.2020.1.10.
56. CILOCI, A., TIURINA, J., LABLIUC, S., DVORNINA, E., et al. Aspects of Directed Synthesis of Proteases in Mycelial Fungi. In: *Moldavian Journal of the Physical Sciences*. 2017. vol. 16, nr. 3–4, pp. 211–218. Electronic ISSN: 1810-648X. Print ISSN: 1810-648X.
57. ЧИЛОЧИ, А., ТЮРИНА, Ж., КЛАПКО, С., ДВОРНИНА, Е., et al. Влияние Наночастиц Оксида Цинка на Физико-химические и Каталитические Свойства Внеклеточных Протеаз Микромицета *Trichoderma Koningii* Oudemans CNMN FD 15. In: *Buletinul AȘM. Științele Vieții*. 2020. vol. Nr. 3(342), pp. 158–167. Electronic ISSN: 1857-064X.
58. SIRBU, T., TIMUS, I., GORINCIOI, V., PUSHKASHU, B., et al. Change of Antifungal Activity of Micromycetes in the Presence of Nanoparticles. In: *Agrarian Science*. 2019. vol. 326, nr. 2, pp. 110–114. Electronic ISSN: 2686-701X. Print ISSN: 0869-8155. DOI: 10.32634/0869-8155-2019-326-2-110-114.
59. СЫРБУ, Т. Влияние Наночастиц Fe₃O₄ На Рост Микромицетов В Присутствие Трифлуралина. In: *Biogeochemical Innovations Under the Conditions of the Biosphere Technogenesis Correction*. 2020. vol. 1, pp. 220–226.
60. POSTOLACHI, O., RASTIMESINA, I., JOSAN, V., GUTUL, T. Effect of Iron Nanoparticles and Herbicide Trifluralin on the Formation of Microbial Consortia. In: *Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie*. 2019. vol. 26, nr. 2, pp. 117–124. Electronic ISSN: 1844-7589. Print ISSN: 1224-5119.
61. EL-MONEIM, D. A., DAWOOD, M. F. A., MOURSI, Y. S., FARGHALY, A. A., et al. Positive and Negative Effects of Nanoparticles on Agricultural Crops. In: *Nanotechnology for Environmental Engineering*. 2021. vol. 6, nr. 2, pp. 1–11. Electronic ISSN: 2365-6387. Print ISSN: 2365-6379. DOI: 10.1007/s41204-021-00117-0.
62. KHAN, S., ZAHOR, M., SHER KHAN, R., IKRAM, M., et al. The Impact of Silver Nanoparticles on the Growth of Plants: The Agriculture Applications. In: *Heliyon*. 2023. vol. 9, nr. 6, p. e16928. Electronic ISSN: 2405-8440. Print ISSN: 2405-8440. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e16928.
63. МАСЛОБРОД, С. Ю., МИРГОРОД, ЛУПАШКУ, Г. С., ГАВЗЕР, С., et al. Оценка Стимуляционного И Фунгицидного Действия Водных Дисперсий С Наночастицами На Семена Родительских Форм И Реципрокных Гибридов Пшеницы. In: *Protecția Plantelor în Agricultura Convențională și Ecologică*. 2018. pp. 216–219.
64. SWEET, M. J., SINGLETON, I. Soil Contamination With Silver Nanoparticles Reduces Bishop Pine Growth and Ectomycorrhizal Diversity on Pine Roots. In: *Journal of Nanoparticle Research*. 2015. vol. 17, nr. 11, pp. 1–8. Electronic ISSN: 1572-896X. Print ISSN: 1388-0764. DOI: 10.1007/s11051-015-3246-4.

65. YIN, L., COLMAN, B. P., MCGILL, B. M., WRIGHT, J. P., et al. Effects of Silver Nanoparticle Exposure on Germination and Early Growth of Eleven Wetland Plants. In: *PLoS ONE*. 2012. vol. 7, nr. 10, p. e47674. Electronic ISSN: 1932-6203. Print ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0047674.
66. GRUYER, N., DORAIS, M., BASTIEN, C., DASSYLVA, N., et al. Interaction Between Silver Nanoparticles and Plant Growth. In: *Acta Horticulturae*. 2014. vol. 1037, pp. 795–800. Electronic ISSN: 2406-6168. Print ISSN: 0567-7572. DOI: 10.17660/ActaHortic.2014.1037.105.
67. HONG, J., RICO, C. M., ZHAO, L., ADELEYE, A. S., et al. Toxic Effects of Copper-Based Nanoparticles or Compounds to Lettuce (*Lactuca Sativa*) and Alfalfa (*Medicago Sativa*). In: *Environmental Sciences: Processes and Impacts*. 2015. vol. 17, nr. 1, pp. 177–185. Electronic ISSN: 2050-7895. Print ISSN: 2050-7887. DOI: 10.1039/c4em00551a.
68. LÓPEZ-VARGAS, E. R., ORTEGA-ORTÍZ, H., CADENAS-PLIEGO, G., ROMENUS, K. A., et al. Foliar Application of Copper Nanoparticles Increases the Fruit Quality and the Content of Bioactive Compounds in Tomatoes. In: *Applied Sciences (Switzerland)*. 2018. vol. 8, nr. 7, p. 1020. Electronic ISSN: 2076-3417. Print ISSN: 2076-3417. DOI: 10.3390/app8071020.
69. LÓPEZ-MORENO, M. L., DE LA ROSA, G., CRUZ-JIMÉNEZ, G., CASTELLANO, L., et al. Effect of ZnO Nanoparticles on Corn Seedlings at Different Temperatures; X-Ray Absorption Spectroscopy and ICP/OES Studies. In: *Microchemical Journal*. 2017. vol. 134, pp. 54–61. Electronic ISSN: 1095-9149. Print ISSN: 0026-265X. DOI: 10.1016/j.microc.2017.05.007.
70. SHALABY, T. A., BAYOUMI, Y., ABDALLA, N., TAHA, H., et al. Nanoparticles, Soils, Plants and Sustainable Agriculture. In: *Nanoscience in food and agriculture 1*. Cham: Springer International Publishing. 2016. ISBN: 9783319393032. DOI: 10.1007/978-3-319-39303-2.
71. MONICA, R. C., CREMONINI, R. Nanoparticles and Higher Plants. In: *Caryologia*. 2009. vol. 62, nr. 2, pp. 161–165. Electronic ISSN: 2165-5391. Print ISSN: 0008-7114. DOI: 10.1080/00087114.2004.10589681.
72. MASAROVICOVÁ, E., KRÁLOVÁ, K. Metal Nanoparticles and Plants. In: *Ecological Chemistry and Engineering S*. 2013. vol. 20, nr. 1, pp. 9–22. Electronic ISSN: 2084-4549. Print ISSN: 1898-6196. DOI: 10.2478/eces-2013-0001.
73. UNRINE, J. M., SHOULTS-WILSON, W. A., ZHURBICH, O., BERTSCH, P. M., et al. Trophic Transfer of Au Nanoparticles From Soil Along a Simulated Terrestrial Food Chain. In: *Environmental Science and Technology*. 2012. vol. 46, nr. 17, pp. 9753–9760. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/es3025325.
74. RAJPUT, V., MINKINA, T., MAZARJI, M., SHENDE, S., et al. Accumulation of Nanoparticles in the Soil-Plant Systems and Their Effects on Human Health. In: *Annals of Agricultural Sciences*. 2020. vol. 65, nr. 2, pp. 137–143. Electronic ISSN: 2090-3760. Print ISSN: 0570-1783. DOI: 10.1016/j.aoas.2020.08.001.
75. FERRY, J. L., CRAIG, P., HEXEL, C., SISCO, P., et al. Transfer of Gold Nanoparticles From the Water Column to the Estuarine Food Web. In: *Nature Nanotechnology*. 2009. vol. 4, nr. 7, pp. 441–444. Electronic ISSN: 1748-3395. Print ISSN: 1748-3387. DOI: 10.1038/nnano.2009.157.
76. COMMISSION RECOMMENDATION OF 10 JUNE 2022 ON THE DEFINITION OF NANOMATERIAL. In: *Official Journal of the European Union*. 2022. vol. 36237, pp. 1–5. Electronic ISSN: 1977-0677. Print ISSN: 1725-2555. DOI: 10.2788/36237.
77. SALAVATI-NIASARI, M., DAVAR, F., MIR, N. Synthesis and Characterization of Metallic Copper Nanoparticles via Thermal Decomposition. In: *Polyhedron*. 2008. vol. 27, nr. 17, pp. 3514–3518. Electronic ISSN: 1873-3719. Print ISSN: 0277-5387. DOI: 10.1016/j.poly.2008.08.020.

78. DOLEZ, P. I. Nanomaterials Definitions, Classifications, and Applications. In: *Nanoengineering*. Elsevier. 2015. pp. 3–40. ISBN: 9780444627476. DOI:10.1016/B978-0-444-62747-6.00001-4.
79. JOVANOVIĆ-POPOVIĆ, D. Nanotechnology and the Internet of Nanothings Benefits and Risks. In: *Socioloski Pregled*. 2023. vol. 57, nr. 1, pp. 124–146. Electronic ISSN: 2560-4880. Print ISSN: 0085-6320. DOI: 10.5937/socpreg57-43017.
80. Mordor Intelligence. *Анализ размера и доли рынка наноматериалов - тенденции роста и прогнозы (2025 - 2030)* [online]. Mordor Intelligence, 2025 [citat 14.03.2026]. Disponibil: <https://www.mordorintelligence.com/ru/industry-reports/nanomaterials-market>
81. Verified Market Reports. *Global Copper Nanoparticle Market By Type (Gas Phase Method, Liquid Phase Method), By Application (Conductive Inks and Coatings, Lubricant Additives), By Geographic Scope And Forecast* [online]. Verified Market Reports, February 18, 2025 [citat 14.03.2026]. Disponibil: <https://www.verifiedmarketreports.com/product/copper-nanoparticle-market/>
82. Verified Market Reports. *Global Colloidal Gold Market Size By Application (Medical Applications, Agricultural Applications), By Formulation (Colloidal Gold Nanoparticles, Colloidal Gold Solutions), By End-User (Healthcare Institutions, Cosmetic Companies), By Distribution Channel (Direct Sales, Online Retail), By Technology (Biotechnology-Driven Production, Chemical Methods), By Geographic Scope And Forecast* [online]. Verified Market Reports, February 17, 2025 [citat 14.03.2026]. Disponibil: <https://www.verifiedmarketreports.com/product/colloidal-gold-market/>
83. Global Market Insights Inc. *Silver Nanoparticles Market Size* [online]. Global Market Insights Inc., July 2021 [citat 14.03.2026]. Disponibil: <https://www.gminsights.com/ru/industry-analysis/silver-nanoparticles-market>
84. Pen (Project On Emerging Nanotechnologies). *Consumer Products Inventory* [online]. Project on Emerging Nanotechnologies, [citat 14.03.2026]. Disponibil: <http://www.nanotechproject.tech/cpi/products/>
85. The Nanodatabase. *Search Database - The Nanodatabase* [online]. The Nanodatabase, [citat 14.03.2026]. Disponibil: <https://nanodb.dk/en/search-database>
86. Nanowerk. *Nanowerk Catalog - Nanotechnology Materials and Equipment* [online]. Nanowerk, [citat 14.03.2026]. Disponibil: <https://nanowerk.com/nanocatalog/index.php>
87. Startbase. *Система активизации и повышения результативности инновационного процесса - Продукция*. [citat 14.10.2025]. Disponibil: <https://www.startbase.ru/products>
88. The European Parliament And The Council Of The European Union. *Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council of 25 November 2015 on novel foods, amending Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council and repealing Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council and Commission Regulation (EC) No 1852/2001 (Text with EEA relevance)* [online]. EUR-Lex, 2015 [citat 14.03.2026]. Disponibil: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/TXT/?uri=CELEX%3A32015R2283>
89. VANCE, M. E., KUIKEN, T., VEJERANO, E. P., MCGINNIS, S. P., et al. Nanotechnology in the Real World: Redeveloping the Nanomaterial Consumer Products Inventory. In: *Beilstein Journal of Nanotechnology*. 2015. vol. 6, nr. 1, pp. 1769–1780. Electronic ISSN: 2190-4286. Print ISSN: 2190-4286. DOI: 10.3762/bjnano.6.181.
90. MURASHOV, V., SCHULTE, P., GERACI, C., HOWARD, J. Regulatory Approaches to Worker Protection in Nanotechnology Industry in the USA and European Union. In: *Industrial Health*. 2011. vol. 49, nr. 3, pp. 280–296. Electronic ISSN: 1880-8026. Print ISSN: 0019-8366. DOI: 10.2486/indhealth.49.280.

91. ХМЕЛЬНИЦКИЙ, И. К., ЛАРИН, А. В., ЛУЧИНИН, В. В. Современное Состояние Нормативно-Методического Обеспечения Безопасности Нанотехнологий В Российской Федерации. In: *Биотехносфера*. 2015. nr. 5 (41), pp. 95–103. Electronic ISSN: 2073-4824. Print ISSN: 2073-4824.
92. Технический Комитет По Стандартизации. *Технический комитет по стандартизации ТК 441 «Нанотехнологии»* [online]. NormaCS, [citat 14.03.2026]. Disponibil: <https://www.normacs.info/companies/246>
93. ISO, CEN. Nanotechnologies—Guidance on Voluntary Labelling for Consumer Products Containing Manufactured Nano-Objects. ISO/TS 13830:2013. 2013.
94. HEMMATI, S., AHANY KAMANGAR, S., AHMEDA, A., ZANGENEH, M. M., et al. Application of Copper Nanoparticles Containing Natural Compounds in the Treatment of Bacterial and Fungal Diseases. In: *Applied Organometallic Chemistry*. 2020. vol. 34, nr. 4, pp. 1–16. Electronic ISSN: 1099-0739. Print ISSN: 0268-2605. DOI: 10.1002/aoc.5465.
95. FULEKAR, M. H. *Nanotechnology in Agriculture and Food Industry*. New Delhi, India: IK International Publishing House Pvt Ltd, 2010, pp. 139–157. ISBN: 9789380026880.
96. LI, N., CUI, J., ZHAO, J., AN, C., et al. Dual-Loaded Nano Pesticide System Based on Industrial Grade Scaleable Carrier Materials With Combinatory Efficacy and Improved Safety. In: *Journal of Nanobiotechnology*. 2024. vol. 22, nr. 1, p. 349. Electronic ISSN: 1477-3155. Print ISSN: 1477-3155. DOI: 10.1186/s12951-024-02599-1.
97. PAVELIĆ, K., PAVELIĆ, S. K., BULOG, A., AGAJ, A., et al. Nanoparticles in Medicine: Current Status in Cancer Treatment. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. vol. 24, nr. 16, p. 12827. Electronic ISSN: 1422-0067. Print ISSN: 1661-6596. DOI: 10.3390/ijms241612827.
98. EALIAS, A. M., SARAVANAKUMAR, M. P. A Review on the Classification, Characterisation, Synthesis of Nanoparticles and Their Application. In: *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2017. vol. 263, nr. 3, p. 032019. Electronic ISSN: 1757-899X. Print ISSN: 1757-8981. DOI: 10.1088/1757-899X/263/3/032019.
99. NICOLAE, C.-L., PÎRVULESCU, D.-C., ANTOHI, A. M., NICULESCU, A. G., et al. Silica Nanoparticles in Medicine: Overcoming Pathologies Through Advanced Drug Delivery, Diagnostics, and Therapeutic Strategies. In: *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 2024. vol. 65, nr. 2, pp. 173–186. Electronic ISSN: 2066-8279. Print ISSN: 1220-0522. DOI: 10.47162/RJME.65.2.01.
100. MAHAWAR, L., RAMASAMY, K. P., SUHEL, M., PRASAD, S. M., et al. Silicon Nanoparticles: Comprehensive Review on Biogenic Synthesis and Applications in Agriculture. In: *Environmental Research*. 2023. vol. 232, p. 116292. Electronic ISSN: 1096-0953. Print ISSN: 0013-9351. DOI: 10.1016/j.envres.2023.116292.
101. RASHEED, A., LI, H., TAHIR, M. M., MAHMOOD, A., et al. The Role of Nanoparticles in Plant Biochemical, Physiological, and Molecular Responses Under Drought Stress: A Review. In: *Frontiers in Plant Science*. 2022. vol. 13, pp. 1–15. Electronic ISSN: 1664-462X. Print ISSN: 1664-462X. DOI: 10.3389/fpls.2022.976179.
102. YASMEEN, F., RAJA, N. I., RAZZAQ, A., KOMATSU, S. Proteomic and Physiological Analyses of Wheat Seeds Exposed to Copper and Iron Nanoparticles. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. 2017. vol. 1865, nr. 1, pp. 28–42. Electronic ISSN: 1878-1454. Print ISSN: 1570-9639. DOI: 10.1016/j.bbapap.2016.10.001.
103. NGUYEN, D. V., MAI, H., THANH, N., KIEN, L., et al. Copper Nanoparticle Application Enhances Plant Growth and Grain Yield in Maize Under Drought Stress Conditions. In: *Journal of Plant Growth Regulation*. 2021. vol. 41, nr. 1, pp. 364–375. Electronic ISSN: 1435-8107. Print ISSN: 0721-7595. DOI: 10.1007/s00344-021-10301-w.

104. PÉREZ-LABRADA, F., LÓPEZ-VARGAS, E. R., ORTEGA-ORTIZ, H., CADENAS-PLIEGO, G., et al. Responses of Tomato Plants Under Saline Stress to Foliar Application of Copper Nanoparticles. In: *Plants*. 2019. vol. 8, nr. 6, pp. 1–17. Electronic ISSN: 2223-7747. Print ISSN: 2223-7747. DOI: 10.3390/plants8060151.
105. KAMLE, M., MAHATO, D. K., DEVI, S., SONI, R., et al. Nanotechnological Interventions for Plant Health Improvement and Sustainable Agriculture. In: *3 Biotech*. 2020. vol. 10, nr. 4, p. 168. Electronic ISSN: 2190-5738. Print ISSN: 2190-572X. DOI: 10.1007/s13205-020-2152-3.
106. VIJAYA KUMAR, R., MASTAI, Y., DIAMANT, Y., GEDANKEN, A. Sonochemical Synthesis of Amorphous Cu and Nanocrystalline Cu₂O Embedded in a Polyaniline Matrix. In: *Journal of Materials Chemistry*. 2001. vol. 11, nr. 4, pp. 1209–1213. Electronic ISSN: 1364-5501. Print ISSN: 0959-9428. DOI: 10.1039/b005769j.
107. ARAÚJO, I. M. S., SILVA, R. R., PACHECO, G., LUSTRI, W. R., et al. Hydrothermal Synthesis of Bacterial Cellulose–Copper Oxide Nanocomposites and Evaluation of Their Antimicrobial Activity. In: *Carbohydrate Polymers*. 2018. vol. 179, pp. 341–349. Electronic ISSN: 1879-1344. Print ISSN: 0144-8617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.09.081.
108. BENN, T. M., WESTERHOFF, P. Nanoparticle Silver Released Into Water From Commercially Available Sock Fabrics. In: *Environmental Science & Technology*. 2008. vol. 42, nr. 11, pp. 4133–4139. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/es801501j.
109. SADAK, M. S. Impact of Silver Nanoparticles on Plant Growth, Some Biochemical Aspects, and Yield of Fenugreek Plant (*Trigonella Foenum-Graecum*). In: *Bulletin of the National Research Centre*. 2019. vol. 43, nr. 1, p. 38. Electronic ISSN: 2522-8307. Print ISSN: 1110-0591. DOI: 10.1186/s42269-019-0077-y.
110. RAMEEN, S., MANAF, A., BIBI, Y., JHANZAB, H. M., et al. Foliar Application of Silver (Ag-NPs) and Copper (Cu-NPs) Nanoparticles Enhances Phenotypic Traits and Oil Quality in *Brassica Napus* L. In: *Scientific Reports*. 2024. vol. 14, nr. 1, p. 27618. Electronic ISSN: 2045-2322. Print ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-024-79269-3.
111. CHITHRANI, D. B., DUNNE, M., STEWART, J., ALLEN, C., et al. Cellular Uptake and Transport of Gold Nanoparticles Incorporated in a Liposomal Carrier. In: *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 2010. vol. 6, nr. 1, pp. 161–169. Electronic ISSN: 1549-9642. Print ISSN: 1549-9634. DOI: 10.1016/j.nano.2009.04.009.
112. PACIOTTI, G. F., MYER, L., WEINREICH, D., GOIA, D., et al. Colloidal Gold: A Novel Nanoparticle Vector for Tumor Directed Drug Delivery. In: *Drug Delivery: Journal of Delivery and Targeting of Therapeutic Agents*. 2004. vol. 11, nr. 3, pp. 169–183. Electronic ISSN: 1521-0464. Print ISSN: 1071-7544. DOI: 10.1080/10717540490433895.
113. DUMAN, H., AKDAŞÇI, E., EKER, F., BECHELANY, M., et al. Gold Nanoparticles: Multifunctional Properties, Synthesis, and Future Prospects. In: *Nanomaterials*. 2024. vol. 14, nr. 22, p. 1805. Electronic ISSN: 2079-4991. Print ISSN: 2079-4991. DOI: 10.3390/nano14221805.
114. WU, C., DONG, F., MEI, X., NING, J., et al. Distribution, Dissipation, and Metabolism of Neonicotinoid Insecticides in the Cotton Ecosystem Under Foliar Spray and Root Irrigation. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019. vol. 67, nr. 45, pp. 12374–12381. Electronic ISSN: 1520-5118. Print ISSN: 0021-8561. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b04664.
115. TIAN, F., QIAO, C., WANG, C., PANG, T., et al. Comparison of the Effectiveness of Thiamethoxam and Its Main Metabolite Clothianidin After Foliar Spraying and Root Irrigation to Control Myzus Persicae on Peach. In: *Scientific Reports*. 2022. vol. 12, nr. 1, pp. 1–9. Electronic ISSN: 2045-2322. Print ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-022-20659-w.
116. AL-JUTHERY, H. W. A., AL-TAEE, R. A. H. G., AL-OBAIDI, Z. H. H., ALI, E. A. H. M., et al. Influence of Foliar Application of Some Nano-Fertilizers in Growth and Yield of Potato Under Drip Irrigation. In: *Journal of Physics: Conference Series*. 2019. vol. 1294, nr. 9, pp. 0–8. Electronic ISSN: 1742-6596. Print ISSN: 1742-6588. DOI: 10.1088/1742-6596/1294/9/092024.

117. SULTANA, S., NASER, H. M., QUDDUS, M. A., SHILL, N. C., et al. Effect of Foliar Application of Iron and Zinc on Nutrient Uptake and Grain Yield of Wheat Under Different Irrigation Regimes. In: *Bangladesh Journal of Agricultural Research*. 2018. vol. 43, nr. 3, pp. 395–406. Electronic ISSN: 2408-8293. Print ISSN: 0258-7122. DOI: 10.3329/bjar.v43i3.38388.
118. LIU, R., YANG, Y., WANG, Y. S., WANG, X. C., et al. Alternate Partial Root-Zone Drip Irrigation with Nitrogen Fertigation Promoted Tomato Growth, Water and Fertilizer-Nitrogen Use Efficiency. In: *Agricultural Water Management*. 2020. vol. 233, p. 106049. Electronic ISSN: 1873-2283. Print ISSN: 0378-3774. DOI: 10.1016/j.agwat.2020.106049.
119. CHAUD, M., SOUTO, E. B., ZIELINSKA, A., SEVERINO, P., et al. Nanopesticides in Agriculture: Benefits and Challenge in Agricultural Productivity, Toxicological Risks to Human Health and Environment. In: *Toxics*. 2021. vol. 9, nr. 6, p. 131. Electronic ISSN: 2305-6304. Print ISSN: 2305-6304. DOI: 10.3390/toxics9060131.
120. HONG, J., WANG, C., WAGNER, D. C., GARDEA-TORRESDEY, J. L., et al. Foliar Application of Nanoparticles: Mechanisms of Absorption, Transfer, and Multiple Impacts. In: *Environmental Science: Nano*. 2021. vol. 8, nr. 5, pp. 1196–1210. Electronic ISSN: 2051-8161. Print ISSN: 2051-8153. DOI: 10.1039/d0en01129k.
121. CORREDOR, E., TESTILLANO, P. S., CORONADO, M. J., GONZÁLEZ-MELENDI, P., et al. Nanoparticle Penetration and Transport in Living Pumpkin Plants: In Situ Subcellular Identification. In: *BMC Plant Biology*. 2009. vol. 9, pp. 1–11. Electronic ISSN: 1471-2229. Print ISSN: 1471-2229. DOI: 10.1186/1471-2229-9-45.
122. AHMED, R., ABD SAMAD, M. Y., UDDIN, M. K., QUDDUS, M. A., et al. Recent Trends in the Foliar Spraying of Zinc Nutrient and Zinc Oxide Nanoparticles in Tomato Production. In: *Agronomy*. 2021. vol. 11, nr. 10, pp. 1–15. Electronic ISSN: 2073-4395. Print ISSN: 2073-4395. DOI: 10.3390/agronomy11102074.
123. GOPINATH, K., GOWRI, S., KARTHIKA, V., ARUMUGAM, A. Green Synthesis of Gold Nanoparticles From Fruit Extract of Terminalia Arjuna, for the Enhanced Seed Germination Activity of *Gloriosa Superba*. In: *Journal of Nanostructure in Chemistry*. 2014. vol. 4, nr. 3, p. 115. Electronic ISSN: 2193-8865. Print ISSN: 2008-9244. DOI: 10.1007/s40097-014-0115-0.
124. LOUIS, C., PLUCHERY, O. Gold Nanoparticles for Physics, Chemistry and Biology. *World Scientific*, 2017. ISBN: 9781786341266.
125. SHAH, K. W., LU, Y. Morphology, Large Scale Synthesis and Building Applications of Copper Nanomaterials. In: *Construction and Building Materials*. 2018. vol. 180, pp. 544–578. Electronic ISSN: 1879-0526. Print ISSN: 0950-0618. DOI: 10.1016/j.conbuildmat.2018.05.159.
126. GUO, Z., LIANG, X., PEREIRA, T., SCAFFARO, R., et al. CuO Nanoparticle Filled Vinyl-Ester Resin Nanocomposites: Fabrication, Characterization and Property Analysis. In: *Composites Science and Technology*. 2007. vol. 67, nr. 10, pp. 2036–2044. Electronic ISSN: 1879-1050. Print ISSN: 0266-3538. DOI: 10.1016/j.compscitech.2006.11.017.
127. MAGAYE, R., ZHAO, J., BOWMAN, L., DING, M. Genotoxicity and Carcinogenicity of Cobalt-, Nickel- and Copper-Based Nanoparticles (Review). In: *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2012. vol. 4, nr. 4, pp. 551–561. Electronic ISSN: 1792-1015. Print ISSN: 1792-0981. DOI: 10.3892/etm.2012.656.
128. RUPARELIA, J. P., CHATTERJEE, A. K., DUTTAGUPTA, S. P., MUKHERJI, S. Strain Specificity in Antimicrobial Activity of Silver and Copper Nanoparticles. In: *Acta Biomaterialia*. 2008. vol. 4, nr. 3, pp. 707–716. Electronic ISSN: 1878-7568. Print ISSN: 1742-7061. DOI: 10.1016/j.actbio.2007.11.006.
129. GAWANDE, M. B., GOSWAMI, A., FELPIN, F. X., ASEFA, T., et al. Cu and Cu-Based Nanoparticles: Synthesis and Applications in Catalysis. In: *Chemical Reviews*. 2016. vol. 116, nr.

- 6, pp. 3722–3811. Electronic ISSN: 1520-6890. Print ISSN: 0009-2665. DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00482.
130. ЧХОП, К. С., РЕБА, В. П. Применение Наночастиц Меди В Качестве Добавки К Смазочному Маслу. In: *Computational Nanotechnology*. 2019. nr. 1, pp. 23–25. Electronic ISSN: 2312-8266. Print ISSN: 2312-8258.
131. LIU, G., LI, X., QIN, B., XING, D., et al. Investigation of the Mending Effect and Mechanism of Copper Nano-Particles on a Tribologically Stressed Surface. In: *Tribology Letters*. 2004. vol. 17, nr. 4, pp. 961–966. Electronic ISSN: 1573-2711. Print ISSN: 1023-8883. DOI: 10.1007/s11249-004-8109-6.
132. GABBAY, J., BORKOW, G., MISHAL, J., MAGEN, E., et al. Copper Oxide Impregnated Textiles with Potent Biocidal Activities. In: *Journal of Industrial Textiles*. 2006. vol. 35, nr. 4, pp. 323–335. Electronic ISSN: 1530-8057. Print ISSN: 1528-0837. DOI: 10.1177/1528083706060785.
133. DALMORA, A. C., RAMOS, C. G., QUEROL, X., KAUTZMANN, R. M., et al. Nanoparticulate Mineral Matter from Basalt Dust Wastes. In: *Chemosphere*. 2016. vol. 144, pp. 2013–2017. Electronic ISSN: 1879-1298. Print ISSN: 0045-6535. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.10.047.
134. AHARI, H., LAHIJANI, L. K. Migration of Silver and Copper Nanoparticles from Food Coating. In: *Coatings*. 2021. vol. 11, nr. 4, p. 380. Electronic ISSN: 2079-6412. Print ISSN: 2079-6412. DOI: 10.3390/coatings11040380.
135. SIDDIQI, K. S., HUSEN, A. Fabrication of Metal Nanoparticles from Fungi and Metal Salts: Scope and Application. In: *Nanoscale Research Letters*. 2016. vol. 11, nr. 1, pp. 1–15. Electronic ISSN: 1556-276X. Print ISSN: 1931-7573. DOI: 10.1186/s11671-016-1311-2.
136. CUSHING, B. L., KOLESNICHENKO, V. L., O'CONNOR, C. J. Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles. In: *Chemical Reviews*. 2004. vol. 104, nr. 9, pp. 3893–3946. Electronic ISSN: 1520-6890. Print ISSN: 0009-2665. DOI: 10.1021/cr030027b.
137. SLEPIČKA, P., KASÁLKOVÁ, N. S., SIEGEL, J., KOLSKÁ, Z., et al. Methods of Gold and Silver Nanoparticles Preparation. In: *Materials*. 2020. vol. 13, nr. 1, p. 1. Electronic ISSN: 1996-1944. Print ISSN: 1996-1944. DOI: 10.3390/ma13010001.
138. SARKAR, P., BHUI, D. K., BAR, H., SAHOO, G. P., et al. Synthesis and Photophysical Study of Silver Nanoparticles Stabilized by Unsaturated Dicarboxylates. In: *Journal of Luminescence*. 2009. vol. 129, nr. 7, pp. 704–709. Electronic ISSN: 1872-7883. Print ISSN: 0022-2313. DOI: 10.1016/j.jlumin.2009.02.002.
139. PATIL, N., BHASKAR, R., VYAVHARE, V., DHADGE, R., et al. Overview on Methods of Synthesis of Nanoparticles. In: *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 2021. vol. 13, nr. 2, pp. 11–16. Electronic ISSN: 0975-7066. Print ISSN: 0975-7066. DOI: 10.22159/ijcpr.2021v13i2.41996.
140. ШАБАТИНА, Т. И., БОЗЕ, А., ВЕРНАЯ, О. И., ГРОМОВА, Я. А., et al. Зеленый Синтез Наночастиц Оксидов Металлов. In: *Вестник Московского Университета. Серия 2. Химия*. 2025. vol. 66, nr. 6, pp. 447–468. Electronic ISSN: 0579-9384. DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2025-66-6-447-468.
141. NAGIME, P. V., CHANDAK, V. S. A Comprehensive Review of Nanomaterials Synthesis: Physical, Chemical, and Biological Approaches and Emerging Challenges. In: *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2024. vol. 62, p. 103458. Electronic ISSN: 1878-8181. Print ISSN: 1878-8181. DOI: 10.1016/j.bcab.2024.103458.
142. ABOU EL-NOUR, K. M. M., EFTAIHA, A., AL-WARTHAN, A., AMMAR, R. A. A. Synthesis and Applications of Silver Nanoparticles. In: *Arabian Journal of Chemistry*. 2010. vol. 3, nr. 3, pp. 135–140. Electronic ISSN: 1878-5379. Print ISSN: 1878-5352. DOI: 10.1016/j.arabjc.2010.04.008.

143. СЕРГЕЕВ, Б. М., КИРЮХИН, М. В., ПРУСОВ, А. Н., СЕРГЕЕВ, В. Г. Получение наночастиц серебра в водных растворах полиакриловой кислоты. In: *Вестник Московского университета. Серия 2. Химия*. 1999. vol. 40, nr. 2, pp. 129–133. Electronic ISSN: 0579-9384.
144. ZHANG, Q., LI, N., GOEBL, J., LU, Z., et al. A Systematic Study of the Synthesis of Silver Nanoplates. In: *Journal of the American Chemical Society*. 2011. vol. 133, nr. 46, pp. 18931–18939. Electronic ISSN: 1520-5126. Print ISSN: 0002-7863. DOI: 10.1021/ja2080345.
145. ИГНАТОВ, И., МОСИН, О. В. Методы Получения Мелкодисперстных Наночастиц Коллоидного Серебра. In: *Интернет-Журнал «Науковедение»*. 2014. vol. 103, nr. 3 (22). Electronic ISSN: 2223-5167. DOI: 10.15862/62TVN314.
146. SIDOROVA, D. E., LIPASOVA, V. A., NADTOCHENKO, V. A., BARANCHIKOV, A. E., et al. Synthesis of Silver Nanoparticles Using Herbaceous Plants Extracts and Effect of Nanoparticles on Bacteria. In: *Biotehnologiya*. 2018. vol. 34, nr. 1, pp. 62–71. Electronic ISSN: 0234-2758. Print ISSN: 0234-2758. DOI: 10.21519/0234-2758-2018-34-1-62-71.
147. DJAFAROV, M. M., SERAPINAS, D. Влияние Некоторых Субстратов На Развитие Штаммов Дрожжевых Грибов Вида *Saccharomyces Ellipsoideus*. In: *Sveikatos mokslai*. 2012. vol. 22, nr. 5, pp. 153–156. Electronic ISSN: 2335-867X. Print ISSN: 1392-6373. DOI: 10.5200/sm-hs.2012.116.
148. DARUICH DE SOUZA, C., RIBEIRO NOGUEIRA, B., ROSTELATO, M. E. C. M. Review of the Methodologies Used in the Synthesis Gold Nanoparticles by Chemical Reduction. In: *Journal of Alloys and Compounds*. 2019. vol. 798, pp. 714–740. Electronic ISSN: 1873-4669. Print ISSN: 0925-8388. DOI: 10.1016/j.jallcom.2019.05.153.
149. TURKEVICH, J., STEVENSON, P. C., HILLIER, J. A Study of the Nucleation and Growth Processes in the Synthesis of Colloidal Gold. In: *Discussions of the Faraday Society*. 1951. vol. 11, pp. 55–75. Electronic ISSN: 1364-5498. Print ISSN: 0366-9033. DOI: 10.1039/DF9511100055.
150. BRUST, M., WALKER, M., BETHELL, D., SCHIFFRIN, D. J., et al. Synthesis of Thiol-Derivatised Gold Nanoparticles in a Two-Phase Liquid-Liquid System. In: *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. 1994. nr. 7, pp. 801–802. Electronic ISSN: 1364-548X. Print ISSN: 0022-4936. DOI: 10.1039/C39940000801.
151. HUSSAIN, M. H., FITRAH, N., BAKAR, A., MUSTAPA, A. N., et al. Synthesis of Various Size Gold Nanoparticles by Chemical Reduction Method with Different Solvent Polarity. In: *Nanoscale Research Letters*. 2020. vol. 15, pp. 140–150. Electronic ISSN: 1556-276X. Print ISSN: 1931-7573. DOI: 10.1186/s11671-020-03370-5.
152. SINGARAVELU, G., AROCKIAMARY, J. S., KUMAR, V. G., GOVINDARAJU, K. A Novel Extracellular Synthesis of Monodisperse Gold Nanoparticles Using Marine Alga, *Sargassum Wightii Greville*. In: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2007. vol. 57, nr. 1, pp. 97–101. Electronic ISSN: 1873-4367. Print ISSN: 0927-7765. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2007.01.010.
153. SARKAR, J., RAY, S., CHATTOPADHYAY, D., LASKAR, A., et al. Mycogenesis of Gold Nanoparticles Using a Phytopathogen *Alternaria Alternata*. In: *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2012. vol. 35, nr. 4, pp. 637–643. Electronic ISSN: 1615-7605. Print ISSN: 1615-7591. DOI: 10.1007/s00449-011-0646-4.
154. LIM, H. A., MISHRA, A., YUN, S. I. Effect of pH on the Extra Cellular Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles by *Saccharomyces Cerevisae*. In: *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2011. vol. 11, nr. 1, pp. 518–522. Electronic ISSN: 1533-4899. Print ISSN: 1533-4880. DOI: 10.1166/jnn.2011.3266.
155. TORTELLA, G., RUBILAR, O., FINCHEIRA, P., PARADA, J., et al. Copper Nanoparticles as a Potential Emerging Pollutant: Divergent Effects in the Agriculture, Risk-Benefit Balance and Integrated Strategies for Its Use. In: *Emerging Contaminants*. 2024. vol. 10, nr. 4, p. 100352. Electronic ISSN: 2405-6650. Print ISSN: 2405-6642. DOI: 10.1016/j.emcon.2024.100352.
156. БЕГЛЕЦОВА, Н. Н., ШИНКАРЕНКО, О. А., СЕЛИФОНОВА, Е. И., ЦВЕТКОВА, О. Ю., et al. Синтез Наночастиц Меди С Применением Гидразина В Мицеллярных Растворах

- Додещилсульфата Натрия. In: *Вестник Московского университета. Серия 2. Химия*. 2019. vol. 60, nr. 1, pp. 19–26. Electronic ISSN: 0579-9384.
157. ТАУСАРОВА, Б. Р., СУЛЕЙМЕНОВА, М. Ш., АЛИПБАЕВ, А. Н. СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ ЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ ТЕКСТИЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ. In: *Новости науки Казахстана*. 2020. vol. 144, nr. 2, pp. 42–50. Electronic ISSN: 2518-2094. Print ISSN: 1992-9641.
158. LEE, H. J., LEE, G., JANG, N. R., YUN, J. H., et al. Biological Synthesis of Copper Nanoparticles Using Plant Extract. In: *Technical Proceedings of the 2011 NSTI Nanotechnology Conference and Expo, NSTI-Nanotech 2011*. 2011. vol. 1, pp. 371–374.
159. VARSHNEY, R., BHADARIA, S., GAUR, M. S., PASRICHA, R. Copper Nanoparticles Synthesis from Electroplating Industry Effluent. In: *Nano Biomedicine and Engineering*. 2011. vol. 3, nr. 2, pp. 115–119. Electronic ISSN: 2150-5578. Print ISSN: 2150-5578. DOI: 10.5101/nbe.v3i2.p115-119.
160. NAVARRO, E., BAUN, A., BEHRA, R., HARTMANN, N. B., et al. Environmental Behavior and Ecotoxicity of Engineered Nanoparticles to Algae, Plants, and Fungi. In: *Ecotoxicology*. 2008. vol. 17, nr. 5, pp. 372–386. Electronic ISSN: 1573-3017. Print ISSN: 0963-9292. DOI: 10.1007/s10646-008-0214-0.
161. BELAVA, V. N., PANYUTA, O. O., YAKOVLEVA, G. M., PYSMENNA, Y. M., et al. The Effect of Silver and Copper Nanoparticles on the Wheat—*Pseudocercospora Herpotrichoides* Pathosystem. In: *Nanoscale Research Letters*. 2017. vol. 12, nr. 1, p. 250. Electronic ISSN: 1556-276X. Print ISSN: 1931-7573. DOI: 10.1186/s11671-017-2028-6.
162. GARNER, K. L., KELLER, A. A. Emerging Patterns for Engineered Nanomaterials in the Environment: A Review of Fate and Toxicity Studies. In: *Journal of Nanoparticle Research*. 2014. vol. 16, nr. 8, p. 2503. Electronic ISSN: 1572-896X. Print ISSN: 1388-0764. DOI: 10.1007/s11051-014-2503-2.
163. TOU, F., YANG, Y., FENG, J., NIU, Z., et al. Environmental Risk Implications of Metals in Sludges from Waste Water Treatment Plants: The Discovery of Vast Stores of Metal-Containing Nanoparticles. In: *Environmental Science and Technology*. 2017. vol. 51, nr. 9, pp. 4831–4840. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/acs.est.6b05931.
164. MORENO-MARTÍN, G., GÓMEZ-GÓMEZ, B., LEÓN-GONZÁLEZ, M. E., MADRID, Y. Characterization of AgNPs and AuNPs in Sewage Sludge by Single Particle Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. In: *Talanta*. 2022. vol. 238, p. 123033. Electronic ISSN: 1873-3573. Print ISSN: 0039-9140. DOI: 10.1016/j.talanta.2021.123033.
165. HOQUE, M. E., KHOSRAVI, K., NEWMAN, K., METCALFE, C. D. Detection and Characterization of Silver Nanoparticles in Aqueous Matrices Using Asymmetric-Flow Field Flow Fractionation with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. In: *Journal of Chromatography A*. 2012. vol. 1233, pp. 109–115. Electronic ISSN: 1873-3778. Print ISSN: 0021-9673. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.02.011.
166. MAHAPATRA, I., SUN, T. Y., CLARK, J. R. A., DOBSON, P. J., et al. Probabilistic Modelling of Prospective Environmental Concentrations of Gold Nanoparticles From Medical Applications as a Basis for Risk Assessment. In: *Journal of Nanobiotechnology*. 2015. vol. 13, nr. 1, pp. 1–14. Electronic ISSN: 1477-3155. Print ISSN: 1477-3155. DOI: 10.1186/s12951-015-0150-0.
167. BLASER, S. A., SCHERINGER, M., MACLEOD, M., HUNGERBÜHLER, K. Estimation of Cumulative Aquatic Exposure and Risk Due to Silver: Contribution of Nano-Functionalized Plastics and Textiles. In: *Science of the Total Environment*. 2008. vol. 390, nr. 2–3, pp. 396–409. Electronic ISSN: 1879-1026. Print ISSN: 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2007.10.010.
168. JAVED, Z., DASHORA, K., MISHRA, M., D. FASAKE, V., et al. Effect of Accumulation of Nanoparticles in Soil Health- A Concern on Future. In: *Frontiers in Nanoscience and Nanotechnology*. 2019. vol. 5, nr. 2. Electronic ISSN: 2397-6527. Print ISSN: 2397-6527. DOI: 10.15761/fnn.1000181.

169. ЦИЦУАШВИЛИ, В. С., МИНКИНА, Т. М., НЕВИДОМСКАЯ, Д. Г., РАДЖПУТ, В. Д., et al. Воздействие Наночастиц Меди На Растения И Почвенные Микроорганизмы (Обзор Литературы). In: *Вестник аграрной науки Дона*. 2017. vol. 3, nr. 39, pp. 93–100. Print ISSN: 2075-6704.
170. JOŚKO, I., OLESZCZUK, P., FUTA, B. The Effect of Inorganic Nanoparticles (ZnO, Cr₂O₃, CuO and Ni) and Their Bulk Counterparts on Enzyme Activities in Different Soils. In: *Geoderma*. 2014. vol. 232–234, pp. 528–537. Electronic ISSN: 1872-6259. Print ISSN: 0016-7061. DOI: 10.1016/j.geoderma.2014.06.012.
171. KOLESNIKOV, S. I., TIMOSHENKO, A. N., KAZEEV, K. S., AKIMENKO, Y. V. Effects of Pollution by Nanoparticles of Nickel and Iron Oxides on Biological Properties of Ordinary Chernozem. In: *University News. North-Caucasian Region. Natural Sciences Series*. 2016. nr. 1, pp. 71–75. Electronic ISSN: 2687-157X. Print ISSN: 1026-2237. DOI: 10.18522/0321-3005-2016-1-71-75.
172. SILLEN, W. M. A., THIJS, S., ABBAMONDI, G. R., JANSSEN, J., et al. Effects of Silver Nanoparticles on Soil Microorganisms and Maize Biomass Are Linked in the Rhizosphere. In: *Soil Biology and Biochemistry*. 2015. vol. 91, pp. 14–22. Electronic ISSN: 1879-3428. Print ISSN: 0038-0717. DOI: 10.1016/j.soilbio.2015.08.019.
173. SHEN, Z., CHEN, Z., HOU, Z., LI, T., et al. Ecotoxicological Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Soil Microorganisms. In: *Frontiers of Environmental Science and Engineering*. 2015. vol. 9, nr. 5, pp. 912–918. Electronic ISSN: 2095-221X. Print ISSN: 2095-2201. DOI: 10.1007/s11783-015-0789-7.
174. LARUE, C., CASTILLO-MICHEL, H., SOBANSKA, S., CÉCILLON, L., et al. Foliar Exposure of the Crop *Lactuca Sativa* to Silver Nanoparticles: Evidence for Internalization and Changes in Ag Speciation. In: *Journal of Hazardous Materials*. 2014. vol. 264, pp. 98–106. Electronic ISSN: 1873-3336. Print ISSN: 0304-3894. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2013.10.053.
175. NAIR, R., VARGHESE, S. H., NAIR, B. G., MAEKAWA, T., et al. Nanoparticulate Material Delivery to Plants. In: *Plant Science*. 2010. vol. 179, nr. 3, pp. 154–163. Electronic ISSN: 1873-2259. Print ISSN: 0168-9452. DOI: 10.1016/j.plantsci.2010.04.012.
176. DEHKOURDI, E. H., MOSAVI, M. Effect of Anatase Nanoparticles (TiO₂) on Parsley Seed Germination (*Petroselinum Crispum*) In Vitro. In: *Biological Trace Element Research*. 2013. vol. 155, nr. 2, pp. 283–286. Electronic ISSN: 1559-0720. Print ISSN: 0163-4984. DOI: 10.1007/s12011-013-9788-3.
177. FALCO, W. F., QUEIROZ, A. M., FERNANDES, J., BOTERO, E. R., et al. Interaction Between Chlorophyll and Silver Nanoparticles: A Close Analysis of Chlorophyll Fluorescence Quenching. In: *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2014. vol. 299, pp. 203–209. Electronic ISSN: 1873-2666. Print ISSN: 1010-6030. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2014.12.001.
178. MEZACASA, A. V., QUEIROZ, A. M., GRACIANO, D. E., PONTES, M. S., et al. Effects of Gold Nanoparticles on Photophysical Behaviour of Chlorophyll and Pheophytin. In: *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2020. vol. 389, p. 112252. Electronic ISSN: 1873-2666. Print ISSN: 1010-6030. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2019.112252.
179. SHARMA, S., UTTAM, R., SARIKA BHARTI, A., UTTAM, K. N. Interaction of Zinc Oxide and Copper Oxide Nanoparticles with Chlorophyll: A Fluorescence Quenching Study. In: *Analytical Letters*. 2019. vol. 52, nr. 10, pp. 1539–1557. Electronic ISSN: 1532-236X. Print ISSN: 0003-2719. DOI: 10.1080/00032719.2018.1556277.
180. MOSA, K. A., EL-NAGGAR, M., RAMAMOORTHY, K., ALAWADHI, H., et al. Copper Nanoparticles Induced Genotoxicity, Oxidative Stress, and Changes in Superoxide Dismutase (SOD) Gene Expression in Cucumber (*Cucumis Sativus*) Plants. In: *Frontiers in Plant Science*. 2018. vol. 9, pp. 1–13. Electronic ISSN: 1664-462X. Print ISSN: 1664-462X. DOI: 10.3389/fpls.2018.00872.
181. ESSA, H. L., ABDELFAHATTAH, M. S., MARZOUK, A. S., SHEDEED, Z., et al. Biogenic Copper Nanoparticles from *Avicennia Marina* Leaves: Impact on Seed Germination,

- Detoxification Enzymes, Chlorophyll Content and Uptake by Wheat Seedlings. In: *PLoS ONE*. 2021. vol. 16, nr. 4 April, pp. 1–20. Electronic ISSN: 1932-6203. Print ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0249764.
182. ALI, S., MEHMOOD, A., KHAN, N. Uptake, Translocation, and Consequences of Nanomaterials on Plant Growth and Stress Adaptation. In: *Journal of Nanomaterials*. 2021. vol. 2021, p. 6677616. Electronic ISSN: 1687-4129. Print ISSN: 1687-4110. DOI: 10.1155/2021/6677616.
183. KELLER, A. A., HUANG, Y., NELSON, J. Detection of Nanoparticles in Edible Plant Tissues Exposed to Nano-Copper Using Single-Particle ICP-MS. In: *Journal of Nanoparticle Research*. 2018. vol. 20, nr. 4, p. 101. Electronic ISSN: 1572-896X. Print ISSN: 1388-0764. DOI: 10.1007/s11051-018-4192-8.
184. TAMEZ, C., MORELIUS, E. W., HERNANDEZ-VIEZCAS, J. A., PERALTA-VIDEA, J. R., et al. Biochemical and Physiological Effects of Copper Compounds/Nanoparticles on Sugarcane (*Saccharum Officinarum*). In: *Science of the Total Environment*. 2019. vol. 649, pp. 554–562. Electronic ISSN: 1879-1026. Print ISSN: 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.08.337.
185. NEKOUKHO, M., FALLAH, S., POKHREL, L. R., ABBASI-SURKI, A., et al. Foliar Enrichment of Copper Oxide Nanoparticles Promotes Biomass, Photosynthetic Pigments, and Commercially Valuable Secondary Metabolites and Essential Oils in Dragonhead (*Dracocephalum Moldavica* L.) Under Semi-Arid Conditions. In: *Science of the Total Environment*. 2023. vol. 863, p. 160920. Electronic ISSN: 1879-1026. Print ISSN: 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.160920.
186. PRAŽAK, R., ŚWIĘCIŁO, A., KRZEPILKO, A., MICHAŁEK, S., et al. Impact of Ag Nanoparticles on Seed Germination and Seedling Growth of Green Beans in Normal and Chill Temperatures. In: *Agriculture (Switzerland)*. 2020. vol. 10, nr. 8, pp. 1–16. Electronic ISSN: 2077-0472. Print ISSN: 2077-0472. DOI: 10.3390/agriculture10080312.
187. THIRUVENGADAM, M., GURUNATHAN, S., CHUNG, I. M. Physiological, Metabolic, and Transcriptional Effects of Biologically-Synthesized Silver Nanoparticles in Turnip (*Brassica rapa ssp. rapa* L.). In: *Protoplasma*. 2015. vol. 252, nr. 4, pp. 1031–1046. Electronic ISSN: 1615-6102. Print ISSN: 0033-183X. DOI: 10.1007/s00709-014-0738-5.
188. YIN, L., CHENG, Y., ESPINASSE, B., COLMAN, B. P., et al. More Than the Ions: The Effects of Silver Nanoparticles on *Lolium Multiflorum*. In: *Environmental Science and Technology*. 2011. vol. 45, nr. 6, pp. 2360–2367. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/es103995x.
189. BADAWEY, A. A., ABDELFAH, N. A. H., SALEM, S. S., AWAD, M. F. Efficacy Assessment of Biosynthesized Copper Oxide Nanoparticles (CuO-NPs) on Stored Grain Insects and Their Impacts on Morphological and Physiological Traits of Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Plant. In: *Biology*. 2021. vol. 10, nr. 3, pp. 1–20. Electronic ISSN: 2079-7737. Print ISSN: 2079-7737. DOI: 10.3390/biology10030233.
190. SALAMA, H. M. H. Effects of Silver Nanoparticles in Some Crop Plants, Common Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) and Corn (*Zea Mays* L.). In: *International Research Journal of Biotechnology*. 2012. vol. 3, nr. 10, pp. 190–197. Electronic ISSN: 2141-5153.
191. SAMI, F., SIDDIQUI, H., HAYAT, S. Impact of Silver Nanoparticles on Plant Physiology: A Critical Review. In: *Sustainable Agriculture Reviews 41*. Springer, 2020, pp. 111–127. Electronic ISSN: 2210-4429. Print ISSN: 2210-4410. DOI: 10.1007/978-3-030-33996-8_6.
192. TRIPATHI, D. K., SINGH, S., SINGH, S., SRIVASTAVA, P. K., et al. Nitric Oxide Alleviates Silver Nanoparticles (AgNPs)-Induced Phytotoxicity in *Pisum Sativum* Seedlings. In: *Plant Physiology and Biochemistry*. 2017. vol. 110, pp. 167–177. Electronic ISSN: 1873-2690. Print ISSN: 0981-9428. DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.06.015.
193. ZHANG, H., CHEN, S., JIA, X., HUANG, Y., et al. Comparison of the Phytotoxicity Between Chemically and Green Synthesized Silver Nanoparticles. In: *Science of the Total*

- Environment*. 2021. vol. 752, p. 142264. Electronic ISSN: 1879-1026. Print ISSN: 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.142264.
194. LI, C., CHENG, H., DANG, F., LI, M., et al. Effects of Exposure Pathways on the Accumulation and Phytotoxicity of Silver Nanoparticles in Soybean and Rice. In: *Nanotoxicology*. 2017. vol. 11, nr. 5, pp. 699–709. Electronic ISSN: 1743-5404. Print ISSN: 1743-5390. DOI: 10.1080/17435390.2017.1344740.
195. MAZUMDAR, H., AHMED, G. U. Phytotoxicity Effect of Silver Nanoparticles on *Oryza Sativa*. In: *International Journal of ChemTech Research*. 2011. vol. 3, nr. 3, pp. 1494–1500. Electronic ISSN: 2455-9555. Print ISSN: 0974-4290.
196. ALMUTAIRI, Z. M., ALHARBI, A. Effect of Silver Nanoparticles on Seed Germination of Crop Plants. In: *International Journal of Nuclear and Quantum Engineering*. 2015. vol. 9, nr. 6, pp. 689–693. Electronic ISSN: 2010-3778. Print ISSN: 2010-376X. DOI: 10.24297/jaa.v4i1.4295.
197. SONG, U., JUN, H., WALDMAN, B., ROH, J., et al. Functional Analyses of Nanoparticle Toxicity: A Comparative Study of the Effects of TiO₂ and Ag on Tomatoes (*Lycopersicon Esculentum*). In: *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2013. vol. 93, pp. 60–67. Electronic ISSN: 1090-2414. Print ISSN: 0147-6513. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2013.03.033.
198. LIU, J. F., YU, S. J., YIN, Y. G., CHAO, J. B. Methods for Separation, Identification, Characterization and Quantification of Silver Nanoparticles. In: *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 2012. vol. 33, pp. 95–106. Electronic ISSN: 1879-3142. Print ISSN: 0165-9936. DOI: 10.1016/j.trac.2011.10.010.
199. KABATA-PENDIAS, A. Trace Elements in Soils and Plants: Fourth Edition. *CRC Press*, 2010. ISBN: 9781420093704.
200. KUMAR, N., TRIPATHI, P., NARA, S. Gold Nanomaterials to Plants: Impact of Bioavailability, Particle Size, and Surface Coating. In: *Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms*. 2018. vol. 1, pp. 195–220. DOI: 10.1016/B978-0-12-811487-2.00009-8.
201. PLOTNIKOV, V. K., SALFETNIKOV, A. A., GOLUBEV, A. A., DYKMAN, L. A. Effect of Gold Nanoparticles on Seeds Germination of Winter Barley. In: *Polythematic Online Scientific Journal of Kuban State Agrarian University*. 2017. nr. 127, pp. 1390–1402. Electronic ISSN: 1990-4665. Print ISSN: 1990-4665. DOI: 10.21515/1990-4665-127-018.
202. KUMAR, V., GULERIA, P., KUMAR, V., YADAV, S. K. Gold Nanoparticle Exposure Induces Growth and Yield Enhancement in *Arabidopsis Thaliana*. In: *Science of the Total Environment*. 2013. vol. 461–462, pp. 462–468. Electronic ISSN: 1879-1026. Print ISSN: 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.05.018.
203. KANT, R., BABITA, T., SHIRKOT, P. Studies on Effect of Gold Nanoparticles on Meloidogyne Incognita and Tomato Plants. In: *Journal of Global Biosciences*. 2016. vol. 5, nr. 4, pp. 4018–4026. Electronic ISSN: 2320-1355. Print ISSN: 2320-1355.
204. ZHU, Z. J., WANG, H., YAN, B., ZHENG, H., et al. Effect of Surface Charge on the Uptake and Distribution of Gold Nanoparticles in Four Plant Species. In: *Environmental Science and Technology*. 2012. vol. 46, nr. 22, pp. 12391–12398. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/es301977w.
205. CIFUENTES, Z., CUSTARDOY, L., DE LA FUENTE, J. M., MARQUINA, C., et al. Absorption and Translocation to the Aerial Part of Magnetic Carbon-Coated Nanoparticles Through the Root of Different Crop Plants. In: *Journal of Nanobiotechnology*. 2010. vol. 8, pp. 1–8. Electronic ISSN: 1477-3155. Print ISSN: 1477-3155. DOI: 10.1186/1477-3155-8-26.
206. ZHAI, G., WALTERS, K. S., PEATE, D. W., ALVAREZ, P. J. J., et al. Transport of Gold Nanoparticles Through Plasmodesmata and Precipitation of Gold Ions in Woody Poplar. In: *Environmental Science and Technology Letters*. 2014. vol. 1, nr. 2, pp. 146–151. Electronic ISSN: 2328-8930. Print ISSN: 2328-8930. DOI: 10.1021/ez400202b.
207. AVELLAN, A., YUN, J., ZHANG, Y., SPIELMAN-SUN, E., et al. Nanoparticle Size and Coating Chemistry Control Foliar Uptake Pathways, Translocation, and Leaf-to-Rhizosphere Transport in Wheat. In: *ACS Nano*. 2019. vol. 13, nr. 5, pp. 5291–5305. Electronic ISSN: 1936-086X. Print ISSN: 1936-0851. DOI: 10.1021/acsnano.8b09781.

208. MAHAKHAM, W., THEERAKULPISUT, P., MAENSIRI, S., PHUMYING, S., et al. Environmentally Benign Synthesis of Phytochemicals-Capped Gold Nanoparticles as Nanoprimer Agent for Promoting Maize Seed Germination. In: *Science of the Total Environment*. 2016. vol. 573, pp. 1089–1102. Electronic ISSN: 1879-1026. Print ISSN: 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.08.120.
209. JUDY, J. D., UNRINE, J. M., RAO, W., WIRICK, S., et al. Bioavailability of Gold Nanomaterials to Plants: Importance of Particle Size and Surface Coating. In: *Environmental Science & Technology*. 2012. vol. 46, nr. 15, pp. 8467–8474. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/es3019397.
210. SABO-ATTWOOD, T., UNRINE, J. M., STONE, J. W., MURPHY, C. J., et al. Uptake, Distribution and Toxicity of Gold Nanoparticles in Tobacco (*Nicotiana Xanthi*) Seedlings. In: *Nanotoxicology*. 2012. vol. 6, nr. 4, pp. 353–360. Electronic ISSN: 1743-5404. Print ISSN: 1743-5390. DOI: 10.3109/17435390.2011.579631.
211. JUDY, J. D., UNRINE, J. M., BERTSCH, P. M. Evidence for Biomagnification of Gold Nanoparticles Within a Terrestrial Food Chain. In: *Environmental Science and Technology*. 2011. vol. 45, nr. 2, pp. 776–781. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/es103031a.
212. HOLSAPPLE, M. P., FARLAND, W. H., LANDRY, T. D., MONTEIRO-RIVIERE, N. A., et al. Research Strategies for Safety Evaluation of Nanomaterials, Part II: Toxicological and Safety Evaluation of Nanomaterials, Current Challenges and Data Needs. In: *Toxicological Sciences*. 2005. vol. 88, nr. 1, pp. 12–17. Electronic ISSN: 1096-0929. Print ISSN: 1096-6080. DOI: 10.1093/toxsci/kfi293.
213. DONALDSON, K., STONE, V. Current Hypotheses on the Mechanisms of Toxicity of Ultrafine Particles. In: *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita*. 2003. vol. 39, nr. 3, pp. 405–410. Electronic ISSN: 2384-8553. Print ISSN: 0021-2571.
214. SONWANI, S., MADAAN, S., ARORA, J., SURYANARAYAN, S., et al. Inhalation Exposure to Atmospheric Nanoparticles and Its Associated Impacts on Human Health: A Review. In: *Frontiers in Sustainable Cities*. 2021. vol. 3, pp. 1–20. Electronic ISSN: 2624-9634. Print ISSN: 2624-9634. DOI: 10.3389/frsc.2021.690444.
215. RAVINDRA, K., SINGH, T., MOR, S., SINGH, V., et al. Real-Time Monitoring of Air Pollutants in Seven Cities of North India During Crop Residue Burning and Their Relationship With Meteorology and Transboundary Movement of Air. In: *Science of the Total Environment*. 2019. vol. 690, pp. 717–729. Electronic ISSN: 1879-1026. Print ISSN: 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.06.216.
216. WILLIAMS, M., VILLARREAL, A., BOZHILOV, K., LIN, S., et al. Metal and Silicate Particles Including Nanoparticles Are Present in Electronic Cigarette Cartomizer Fluid and Aerosol. In: *PLoS ONE*. 2013. vol. 8, nr. 3, pp. 1–11. Electronic ISSN: 1932-6203. Print ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0057987.
217. АНЦИФЕРОВА, А. А., КОПАЕВА, М. Ю., КОЧКИН, В. Н., КАШКАРОВ, П. К. Влияние Длительного Перорального Введения Наночастиц Серебра На Когнитивные Функции Млекопитающих. In: *Токсикологический вестник*. 2021. vol. 29, nr. 6, pp. 33–38. Electronic ISSN: 2312-1316. Print ISSN: 0869-7922. DOI: 10.47470/0869-7922-2021-29-6-33-38.
218. HAN, H., YANG, M., YOON, C., LEE, G., et al. Toxicity of Orally Administered Food-Grade Titanium Dioxide Nanoparticles. In: *Journal of Applied Toxicology*. 2021. vol. 41, nr. 7, pp. 1127–1147. Electronic ISSN: 1099-1263. Print ISSN: 0260-437X. DOI: 10.1002/jat.4099.
219. SANI, A., CAO, C., CUI, D. Toxicity of Gold Nanoparticles (AuNPs): A Review. In: *Biochemistry and Biophysics Reports*. 2021. vol. 26, p. 100991. Electronic ISSN: 2405-5808. Print ISSN: 2405-5808. DOI: 10.1016/j.bbrep.2021.100991.
220. IVLIEVA, A. L., PETRITSKAYA, E. N., ROGATKIN, D. A., DEMIN, V. A., et al. Impact of Chronic Oral Administration of Silver Nanoparticles on Cognitive Abilities of Mice. In: *Physics*

- of *Particles and Nuclei Letters*. 2021. vol. 18, nr. 2, pp. 250–265. Electronic ISSN: 1531-8567. Print ISSN: 1547-4771. DOI: 10.1134/S1547477121020072.
221. RUDI, L., ZINICOVSCAIA, I., CEPOI, L., CHIRIAC, T., et al. Accumulation and Effect of Silver Nanoparticles Functionalized with *Spirulina Platensis* on Rats. In: *Nanomaterials*. 2021. vol. 11, nr. 11, p. 2992. Electronic ISSN: 2079-4991. Print ISSN: 2079-4991. DOI: 10.3390/nano11112992.
222. RECORDATI, C., DE MAGLIE, M., CELLA, C., ARGENTIERE, S., et al. Repeated Oral Administration of Low Doses of Silver in Mice: Tissue Distribution and Effects on Central Nervous System. In: *Particle and Fibre Toxicology*. 2021. vol. 18, nr. 1, pp. 1–18. Electronic ISSN: 1743-8977. Print ISSN: 1743-8977. DOI: 10.1186/s12989-021-00418-x.
223. LOPEZ-CHAVES, C., SOTO-ALVAREDO, J., MONTES-BAYON, M., BETTMER, J., et al. Gold Nanoparticles: Distribution, Bioaccumulation and Toxicity. In Vitro and in Vivo Studies. In: *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 2018. vol. 14, nr. 1, pp. 1–12. Electronic ISSN: 1549-9642. Print ISSN: 1549-9634. DOI: 10.1016/j.nano.2017.08.011.
224. ARAYA, M., OLIVARES, M., PIZARRO, F. Copper in Human Health. In: *International Journal of Environment and Health*. 2007. vol. 1, nr. 4, pp. 608–620. Electronic ISSN: 1743-4963. Print ISSN: 1743-4955. DOI: 10.1504/IJENVH.2007.018578.
225. DOUDI, M., SETORKI, M. Acute Effect of Nano-Copper on Liver Tissue and Function in Rat. In: *Nanomedicine Journal*. 2015. vol. 1, nr. 5, pp. 331–338. Electronic ISSN: 2322-590X. Print ISSN: 2322-3044. DOI: 10.7508/nmj.2014.05.006.
226. MOURDIKOU DIS, S., PALLARES, R. M., THANH, N. T. K. Characterization Techniques for Nanoparticles: Comparison and Complementarity Upon Studying Nanoparticle Properties. In: *Nanoscale*. 2018. vol. 10, nr. 27, pp. 12871–12934. Electronic ISSN: 2040-3372. Print ISSN: 2040-3364. DOI: 10.1039/c8nr02278j.
227. IVLIEVA, A. L., ZINICOVSCAIA, I., PETRITSKAYA, E. N., ROGATKIN, D. A. Nanoparticles and Nanomaterials as Inevitable Modern Toxic Agents. Review. Part 2. Main Areas of Research on Toxicity and Techniques to Measure a Content of Nanoparticles in Tissues. In: *Ekologiya Cheloveka (Human Ecology)*. 2022. vol. 29, nr. 3, pp. 5–20. Electronic ISSN: 1728-0869. Print ISSN: 1728-0869. DOI: 10.17816/humeco100156.
228. ЕВДОКИМОВ, И. И., ПИМЕНОВ, В. Г., ФАДЕЕВА, Д. А. АЭС-ИСП анализ высокочистого мышьяка. In: *Аналитика и контроль*. 2015. vol. 19, nr. 1, pp. 13–20. Electronic ISSN: 2587-7151. Print ISSN: 2073-1446. DOI: 10.15826/analitika.2015.19.1.006.
229. ПУПЫШЕВ, А. А., ДАНИЛОВА, А. Д. Использование Атомно-Эмиссионной Спектрометрии С Индуктивно Связанной Плазмой Для Анализа Материалов И Продуктов Черной Металлургии. In: *Аналитика И Контроль*. 2007. vol. 11, nr. 2–3, pp. 131–181. Electronic ISSN: 2587-7151. Print ISSN: 2073-1446.
230. ПУПЫШЕВ, А. А., ЭПОВА, Е. Н. Спектральные помехи полиатомных ионов в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. In: *Аналитика и контроль*. 2001. vol. 4, pp. 335–369. Electronic ISSN: 2587-7151. Print ISSN: 2073-1446.
231. GREENBERG, R. R., BODE, P., FERNANDES, E. A. D. N. Neutron Activation Analysis: A Primary Method of Measurement. In: *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. 2011. vol. 66, nr. 3–4, pp. 193–241. Electronic ISSN: 1873-3565. Print ISSN: 0584-8547. DOI: 10.1016/j.sab.2011.02.001.
232. HAVRANEK, V., RANDA, Z., MIZERA, J. Analytical Capabilities of the PIXE, PIGE and RBS Techniques in the Investigation of Moldavites. In: *Workshop on Radioanalytical Methods IAA 07*. 2008. pp. 22–25.
233. MENYIY, N. E., MRABTI, H. N., OMARI, N. E., BAKILI, A. E. I., et al. Medicinal Uses, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology of *Mentha Spicata*. In: *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2022. vol. 2022, p. 7990508. Electronic ISSN: 1741-4288. Print ISSN: 1741-427X. DOI: 10.1155/2022/7990508.

234. MAHBOUBI, M. *Mentha Spicata* L. Essential Oil, Phytochemistry and Its Effectiveness in Flatulence. In: *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2021. vol. 11, nr. 2, pp. 75–81. Electronic ISSN: 2225-4110. Print ISSN: 2225-4110. DOI: 10.1016/j.jtcme.2017.08.011.
235. KUMAR, P., MISHRA, S., MALIK, A., SATYA, S. Insecticidal Properties of *Mentha* Species: A Review. In: *Industrial Crops and Products*. 2011. vol. 34, nr. 1, pp. 802–817. Electronic ISSN: 1872-633X. Print ISSN: 0926-6690. DOI: 10.1016/j.indcrop.2011.02.019.
236. KUETE, V. *Medicinal Spices and Vegetables from Africa: Therapeutic Potential Against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases*. Academic Press, 2017. Electronic ISBN: 9780128092866. DOI: 10.1016/C2015-0-05564-3.
237. MARTHE, F. *Petroselinum Crispum* (Mill.) Nyman (Parsley). In: *Medicinal, Aromatic and Stimulant Plants*. Springer, 2020, pp. 435–466. Electronic ISSN: 978-3-030-38792-1. Print ISSN: 978-3-030-38791-4. DOI: 10.1007/978-3-030-44930-8_17.
238. JOHN, R., JAN, N. *Calendula Officinalis*—An Important Medicinal Plant with Potential Biological Properties. In: *Proceedings of the Indian National Science Academy*. 2017. vol. 93, nr. 0. Electronic ISSN: 2454-9983. Print ISSN: 0370-0046. DOI: 10.16943/ptinsa/2017/49126.
239. AK, G., ZENGİN, G., CEYLAN, R., FAWZI MAHOMOODALLY, M., et al. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils from *Calendula Officinalis* L. Flowers and Leaves. In: *Flavour and Fragrance Journal*. 2021. vol. 36, nr. 5, pp. 554–563. Electronic ISSN: 1099-1026. Print ISSN: 0882-5734. DOI: 10.1002/ffj.3661.
240. SHARMA, A., LEE, H. J. Anti-Inflammatory Activity of Bilberry (*Vaccinium Myrtillus* L.). In: *Current Issues in Molecular Biology*. 2022. vol. 44, nr. 10, pp. 4570–4583. Electronic ISSN: 1467-3045. Print ISSN: 1467-3037. DOI: 10.3390/cimb44100313.
241. KORUS, A., JAWORSKA, G., BERNAS, E., JUSZCZAK, L. Characteristics of Physico-Chemical Properties of Bilberry (*Vaccinium Myrtillus* L.) Jams with Added Herbs. In: *Journal of Food Science and Technology*. 2015. vol. 52, nr. 5, pp. 2815–2823. Electronic ISSN: 0975-8402. Print ISSN: 0022-1155. DOI: 10.1007/s13197-014-1315-9.
242. VANEKOVÁ, Z., ROLLINGER, J. M. Bilberries: Curative and Miraculous – A Review on Bioactive Constituents and Clinical Research. In: *Frontiers in Pharmacology*. 2022. vol. 13, pp. 1–15. Electronic ISSN: 1663-9812. Print ISSN: 1663-9812. DOI: 10.3389/fphar.2022.909914.
243. KLAVINS, L., MAAGA, I., BERTINS, M., HYKKERUD, A. L., et al. Trace Element Concentration and Stable Isotope Ratio Analysis in Blueberries and Bilberries: A Tool for Quality and Authenticity Control. In: *Foods*. 2021. vol. 10, nr. 3, pp. 1–13. Electronic ISSN: 2304-8158. Print ISSN: 2304-8158. DOI: 10.3390/foods10030567.
244. GASPAR, D. P., LECHTENBERG, M., HENSEL, A. Quality Assessment of Bilberry Fruits (*Vaccinium Myrtillus*) and Bilberry-Containing Dietary Supplements. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2021. vol. 69, nr. 7, pp. 2213–2225. Electronic ISSN: 1520-5118. Print ISSN: 0021-8561. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c07784.
245. SANJOSÉ, I., NAVARRO-ROLDÁN, F., MONTERO, Y., RAMÍREZ-ACOSTA, S., et al. The Bioconcentration and the Translocation of Heavy Metals in Recently Consumed *Salicornia Ramosissima* J. Woods in Highly Contaminated Estuary Marshes and Its Food Risk. In: *Diversity*. 2022. vol. 14, nr. 6, p. 452. Electronic ISSN: 1424-2818. Print ISSN: 1424-2818. DOI: 10.3390/d14060452.
246. CIOCARLAN, A., SHVETSOVA, M., ZINICOVSCAIA, I., CHALIGAVA, O., et al. Mineral Composition of Fifteen Species of Asteraceae Family Growing in the Republic of Moldova Using Neutron Activation Analysis. In: *Agronomy*. 2024. vol. 14, nr. 10, p. 2387. Electronic ISSN: 2073-4395. Print ISSN: 2073-4395. DOI: 10.3390/agronomy14102387.
247. YANG, B., REN, S., ZHANG, K., LI, S., et al. Distribution of Trace Metals in a Soil–Tea Leaves–Tea Infusion System: Characteristics, Translocation and Health Risk Assessment. In: *Environmental Geochemistry and Health*. 2022. vol. 44, nr. 12, pp. 4631–4645. Electronic ISSN: 1573-2983. Print ISSN: 0269-4042. DOI: 10.1007/s10653-021-01190-9.
248. KOWALSKA, G., PANKIEWICZ, U., KOWALSKI, R. Determination of the Level of Selected Elements in Canned Meat and Fish and Risk Assessment for Consumer Health.

- In: *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2020. vol. 2020, p. 2148794. Electronic ISSN: 2090-8873. Print ISSN: 2090-8865. DOI: 10.1155/2020/2148794.
249. TAYLOR, A. A., TSUJI, J. S., MCARDLE, M. E., ADAMS, W. J., et al. Recommended Reference Values for Risk Assessment of Oral Exposure to Copper. In: *Risk Analysis*. 2023. vol. 43, nr. 2, pp. 211–218. Electronic ISSN: 1539-6924. Print ISSN: 0272-4332. DOI: 10.1111/risa.13906.
250. US EPA. Reference Dose for Chronic Oral Exposure of Silver. CASRN 7440-22-4. In: IRIS - Integrated Risk Information System [online]. 1991, p. 1–13 [cit. 14.03.2026]. Available from: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0099_summary.pdf
251. EVARISTE, L., LAMAS, B., ELLERO-SIMATOS, S., KHOURY, L., et al. A 90-Day Oral Exposure to Food-Grade Gold at Relevant Human Doses Impacts the Gut Microbiota and the Local Immune System in a Sex-Dependent Manner in Mice. In: *Particle and Fibre Toxicology*. 2023. vol. 20, nr. 1, pp. 1–25. Electronic ISSN: 1743-8977. Print ISSN: 1743-8977. DOI: 10.1186/s12989-023-00539-5.
252. LICHTENTHALER, H. K., WELLBURN, A. R. Determinations of Total Carotenoids and Chlorophylls a and b of Leaf Extracts in Different Solvents. In: *Biochemical Society Transactions*. 1983. vol. 11, nr. 5, pp. 591–592. Electronic ISSN: 1470-8752. Print ISSN: 0300-5127. DOI: 10.1042/bst0110591.
253. RUDI, L., CHIRIAC, T., CEPOI, L., MISCU, V., et al. Metode de analiză în ficobiotehnologie. Ghid metodic. Chișinău: 2020.
254. RE, R., NICOLETTA, P., ANNA, P., ANANTH, P., et al. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. In: *Free Radical Biology and Medicine*. 1999. vol. 26, nr. 9–10, pp. 1231–1237. Electronic ISSN: 1873-4596. Print ISSN: 0891-5849. DOI: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3.
255. BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. In: *LWT - Food Science and Technology*. 1995. vol. 28, nr. 1, pp. 25–30. Electronic ISSN: 1096-1127. Print ISSN: 0023-6438. DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
256. SINGLETON, V. L., ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. In: *American Journal of Enology and Viticulture*. 1965. vol. 16, nr. 3, pp. 144–158. Electronic ISSN: 1943-7749. Print ISSN: 0002-9254. DOI: 10.5344/ajev.1965.16.3.144.
257. HEATH, R. L., PACKER, L. Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts. In: *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1968. vol. 125, nr. 1, pp. 189–198. Electronic ISSN: 1096-0384. Print ISSN: 0003-9861. DOI: 10.1016/0003-9861(68)90654-1.
258. RATTAN, S., PARTAP, M., KUMAR, S., WARGHAT, A. R. Nutrient Feeding Approach Enhances the Vegetative Growth Biomass, Volatile Oil Composition, and Myristicin Content in Hydroponically Cultivated *Petroselinum Crispum* (Mill.) Nyman. In: *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2022. vol. 26, p. 100359. Electronic ISSN: 2214-7861. Print ISSN: 2214-7861. DOI: 10.1016/j.jarmap.2021.100359.
259. SEREGINA, T., CHERNIKOVA, O., MAZHAYSKY, Y., AMPLEEVA, L. Features of the Influence of Copper Nanoparticles and Copper Oxide on the Formation of Barley Crop. In: *Agronomy Research*. 2020. vol. 18, nr. S1, pp. 1010–1017. Electronic ISSN: 1406-894X. Print ISSN: 1406-894X. DOI: 10.15159/AR.20.025.
260. RAI, M., INGLE, A. P., PANDIT, R., PARALIKAR, P., et al. Copper and Copper Nanoparticles: Role in Management of Insect-Pests and Pathogenic Microbes. In: *Nanotechnology Reviews*. 2018. vol. 7, nr. 4, pp. 303–315. Electronic ISSN: 2191-9097. Print ISSN: 2191-9089. DOI: 10.1515/ntrev-2018-0031.
261. PESHKOVA, A., ZINICOVSCAIA, I., CEPOI, L., RUDI, L., et al. Features of Copper and Gold Nanoparticle Translocation in *Petroselinum Crispum* Segments. In: *Nanomaterials*. 2023. vol. 13, nr. 11, pp. 1–13. Electronic ISSN: 2079-4991. Print ISSN: 2079-4991. DOI: 10.3390/nano13111754.

262. MALEJKO, J., GODLEWSKA-ŻYŁKIEWICZ, B., VANEK, T., LANDA, P., et al. Uptake, Translocation, Weathering and Speciation of Gold Nanoparticles in Potato, Radish, Carrot and Lettuce Crops. In: *Journal of Hazardous Materials*. 2021. vol. 418, p. 126219. Electronic ISSN: 1873-3336. Print ISSN: 0304-3894. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.126219.
263. KHAN, M. R., ADAM, V., RIZVI, T. F., ZHANG, B., et al. Nanoparticle–Plant Interactions: Two-Way Traffic. In: *Small*. 2019. vol. 15, nr. 37, pp. 1–20. Electronic ISSN: 1613-6829. Print ISSN: 1613-6810. DOI: 10.1002/smll.201901794.
264. LEE, W. M., AN, Y. J., YOON, H., KWEON, H. S. Toxicity and Bioavailability of Copper Nanoparticles to the Terrestrial Plants Mung Bean (*Phaseolus Radiatus*) and Wheat (*Triticum Aestivum*): Plant Agar Test for Water-Insoluble Nanoparticles. In: *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2008. vol. 27, nr. 9, pp. 1915–1921. Electronic ISSN: 1552-8618. Print ISSN: 0730-7268. DOI: 10.1897/07-481.1.
265. PERREAULT, F., SAMADANI, M., DEWEZ, D. Effect of Soluble Copper Released from Copper Oxide Nanoparticles Solubilisation on Growth and Photosynthetic Processes of *Lemna Gibba* L. In: *Nanotoxicology*. 2014. vol. 8, nr. 4, pp. 374–382. Electronic ISSN: 1743-5404. Print ISSN: 1743-5390. DOI: 10.3109/17435390.2013.789936.
266. WANG, S., FU, Y., ZHENG, S., XU, Y., et al. Phytotoxicity and Accumulation of Copper-Based Nanoparticles in Brassica Under Cadmium Stress. In: *Science of the Total Environment*. 2022. vol. 838, p. 156462. Electronic ISSN: 1879-1026. Print ISSN: 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.156462.
267. BARRENA, R., CASALS, E., COLÓN, J., FONT, X., et al. Evaluation of the Ecotoxicity of Model Nanoparticles. In: *Chemosphere*. 2009. vol. 75, nr. 7, pp. 850–857. Electronic ISSN: 1879-1298. Print ISSN: 0045-6535. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.01.078.
268. NEKRASOVA, G. F., USHAKOVA, O. S., ERMAKOV, A. E., UIMIN, M. A., et al. Effects of Copper (II) Ions and Copper Oxide Nanoparticles on *Elodea Densa* Planch. In: *Russian Journal of Ecology*. 2011. vol. 42, nr. 6, pp. 458–463. Electronic ISSN: 1608-3334. Print ISSN: 1067-4136. DOI: 10.1134/S1067413611060117.
269. PESHKOVA, A., ZINICOVSCAIA, I., CEPOI, L., RUDI, L., et al. Effects of Gold Nanoparticles on *Mentha Spicata* L., Soil Microbiota, and Human Health Risks: Impact of Exposure Routes. In: *Nanomaterials*. 2024. vol. 14, nr. 11, pp. 1–15. Electronic ISSN: 2079-4991. Print ISSN: 2079-4991. DOI: 10.3390/nano14110955.
270. PESHKOVA, A., ZINICOVSCAIA, I., CEPOI, L., RUDI, L., et al. Uptake of Gold, Silver, and Copper Nanoparticles by *Calendula Officinalis* L. and Their Effect on the Plant Biochemical Parameters. In: *The European Physical Journal Special Topics*. 2025. Electronic ISSN: 1951-6401. Print ISSN: 1951-6355. DOI: 10.1140/epjs/s11734-025-01534-x.
271. PESHKOVA, A., ZINICOVSCAIA, I., CEPOI, L., RUDI, L., et al. Features of Translocation of Copper Nanoparticles in *Mentha Spicata* L. and Extraction into Infusion. In: *Plants*. 2025. vol. 14, nr. 21, p. 3318. Electronic ISSN: 2223-7747. Print ISSN: 2223-7747. DOI: 10.3390/plants14213318.
272. ASADISHAD, B., CHAHAL, S., CIANCIARELLI, V., ZHOU, K., et al. Effect of Gold Nanoparticles on Extracellular Nutrient-Cycling Enzyme Activity and Bacterial Community in Soil Slurries: Role of Nanoparticle Size and Surface Coating. In: *Environmental Science: Nano*. 2017. vol. 4, nr. 4, pp. 907–918. Electronic ISSN: 2051-8161. Print ISSN: 2051-8153. DOI: 10.1039/C6EN00567E.
273. FRENK, S., BEN-MOSHE, T., DROR, I., BERKOWITZ, B., et al. Effect of Metal Oxide Nanoparticles on Microbial Community Structure and Function in Two Different Soil Types. In: *PLoS ONE*. 2013. vol. 8, nr. 12, pp. 1–12. Electronic ISSN: 1932-6203. Print ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0084441.
274. WEI, S., ZHOU, Q., SAHA, U. K. Hyperaccumulative Characteristics of Weed Species to Heavy Metals. In: *Water, Air, and Soil Pollution*. 2008. vol. 192, nr. 1–4, pp. 173–181. Electronic ISSN: 1573-2932. Print ISSN: 0049-6979. DOI: 10.1007/s11270-008-9644-9.

275. RASTOGI, A., ZIVCAK, M., SYTAR, O., KALAJI, H. M., et al. Impact of Metal and Metal Oxide Nanoparticles on Plant: A Critical Review. In: *Frontiers in Chemistry*. 2017. vol. 5, pp. 1–16. Electronic ISSN: 2296-2646. Print ISSN: 2296-2646. DOI: 10.3389/fchem.2017.00078.
276. ZHAO, L., ORTIZ, C., ADELEYE, A. S., HU, Q., et al. Metabolomics to Detect Response of Lettuce (*Lactuca Sativa*) to Cu(OH)₂ Nanopesticides: Oxidative Stress Response and Detoxification Mechanisms. In: *Environmental Science and Technology*. 2016. vol. 50, nr. 17, pp. 9697–9707. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/acs.est.6b02763.
277. ZHAO, L., HUANG, Y., HU, J., ZHOU, H., et al. 1H NMR and GC-MS Based Metabolomics Reveal Defense and Detoxification Mechanism of Cucumber Plant Under Nano-Cu Stress. In: *Environmental Science and Technology*. 2016. vol. 50, nr. 4, pp. 2000–2010. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/acs.est.5b05011.
278. LÓPEZ-LUNA, J., NOPAL-HORMIGA, Y., LÓPEZ-SÁNCHEZ, L., MTZ-ENRIQUEZ, A. I., et al. Effect of Methods Application of Copper Nanoparticles in the Growth of Avocado Plants. In: *Science of the Total Environment*. 2023. vol. 880, p. 163341. Electronic ISSN: 1879-1026. Print ISSN: 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.163341.
279. DAS, S., DEBNATH, N., PRADHAN, S., GOSWAMI, A. Enhancement of Photon Absorption in the Light-Harvesting Complex of Isolated Chloroplast in the Presence of Plasmonic Gold Nanosol—A Nanobionic Approach Towards Photosynthesis and Plant Primary Growth Augmentation. In: *Gold Bulletin*. 2017. vol. 50, nr. 3, pp. 247–257. Electronic ISSN: 2190-7579. Print ISSN: 2364-821X. DOI: 10.1007/s13404-017-0214-z.
280. YANG, Z., XIAO, Y., JIAO, T., ZHANG, Y., et al. Effects of Copper Oxide Nanoparticles on the Growth of Rice (*Oryza Sativa* L.) Seedlings and the Relevant Physiological Responses. In: *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020. vol. 17, nr. 4, p. 1260. Electronic ISSN: 1660-4601. Print ISSN: 1661-7827. DOI: 10.3390/ijerph17041260.
281. HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, H., QUITERIO-GUTIÉRREZ, T., CADENAS-PLIEGO, G., ORTEGA-ORTIZ, H., et al. Impact of Selenium and Copper Nanoparticles on Yield, Antioxidant System, and Fruit Quality of Tomato Plants. In: *Plants*. 2019. vol. 8, nr. 10, pp. 1–17. Electronic ISSN: 2223-7747. Print ISSN: 2223-7747. DOI: 10.3390/plants8100355.
282. PESHKOVA, A., ZINICOVSCAIA, I., RUDI, L., CHIRIAC, T., et al. Effects of Foliar Application of Copper and Gold Nanoparticles on *Petroselinum Crispum* (Mill.). In: *Nanomaterials*. 2025. vol. 15, nr. 4, p. 280. Electronic ISSN: 2079-4991. Print ISSN: 2079-4991. DOI: 10.3390/nano15040280.
283. HA, N., SEO, E., KIM, S., LEE, S. J. Adsorption of Nanoparticles Suspended in a Drop on a Leaf Surface of *Perilla Frutescens* and Their Infiltration Through Stomatal Pathway. In: *Scientific Reports*. 2021. vol. 11, nr. 1, pp. 1–14. Electronic ISSN: 2045-2322. Print ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-021-91073-x.
284. KOHATSU, M. Y., PELEGRINO, M. T., MONTEIRO, L. R., FREIRE, B. M., et al. Comparison of Foliar Spray and Soil Irrigation of Biogenic CuO Nanoparticles (NPs) on Elemental Uptake and Accumulation in Lettuce. In: *Environmental Science and Pollution Research*. 2021. vol. 28, nr. 13, pp. 16350–16367. Electronic ISSN: 1614-7499. Print ISSN: 0944-1344. DOI: 10.1007/s11356-020-12169-x.
285. KUMAR, D., KUMAR, S., SHEKHAR, C. Nutritional Components in Green Leafy Vegetables: A Review. In: *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2020. vol. 9, nr. 5, pp. 2498–2502. Electronic ISSN: 2349-8234. Print ISSN: 2278-4136.
286. KHAN, F. A., BHAT, S. A., NARAYAN, S. Storage Methods for Fruits and Vegetables. *Sher-e-Kashmir University of Agricultural Sciences and Technology of Kashmir*, 2017.
287. SIDDIQI, K. S., HUSEN, A. Plant Response to Silver Nanoparticles: A Critical Review. In: *Critical Reviews in Biotechnology*. 2022. vol. 42, nr. 7, pp. 973–990. Electronic ISSN: 1549-7801. Print ISSN: 0738-8551. DOI: 10.1080/07388551.2021.1975099.
288. VENZHNIK, Y. V., MOSHKOV, I. E., DYKMAN, L. A. Gold Nanoparticles in Plant Physiology: Principal Effects and Prospects of Application. In: *Russian Journal of Plant*

- Physiology*. 2021. vol. 68, nr. 3, pp. 401–412. Electronic ISSN: 1608-3407. Print ISSN: 1021-4437. DOI: 10.1134/S1021443721030186.
289. KHURANA, C., VALA, A. K., ANDHARIYA, N., PANDEY, O. P., et al. Antibacterial Activity of Silver: The Role of Hydrodynamic Particle Size at Nanoscale. In: *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*. 2014. vol. 102, nr. 10, pp. 3361–3368. Electronic ISSN: 1552-4965. Print ISSN: 1549-3296. DOI: 10.1002/jbm.a.35005.
290. SCHNEIDER, G. Antimicrobial Silver Nanoparticles - Regulatory Situation in the European Union. In: *Materials Today: Proceedings*. 2017. vol. 4, pp. S200–S207. Electronic ISSN: 2214-7853. Print ISSN: 2214-7853. DOI: 10.1016/j.matpr.2017.09.187.
291. RAI, M., SHEGOKAR, R. Metal Nanoparticles in Pharma. Springer, 2017. ISBN: 9783319637907. DOI: 10.1007/978-3-319-63790-7.
292. VISHWAKARMA, K., SHWETA, UPADHYAY, N., SINGH, J., et al. Differential Phytotoxic Impact of Plant Mediated Silver Nanoparticles (AgNPs) and Silver Nitrate (AgNO₃) on Brassica sp. In: *Frontiers in Plant Science*. 2017. vol. 8, pp. 1–12. Electronic ISSN: 1664-462X. Print ISSN: 1664-462X. DOI: 10.3389/fpls.2017.01501.
293. KAVEH, R., LI, Y. S., RANJBAR, S., TEHRANI, R., et al. Changes in *Arabidopsis Thaliana* Gene Expression in Response to Silver Nanoparticles and Silver Ions. In: *Environmental Science & Technology*. 2013. vol. 47, nr. 18, pp. 10637–10644. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/es402209w.
294. PESHKOVA, A. A., ZINICOVSCAIA, I., RUDI, L., CHIRIAC, T., et al. Evaluation of the Response of *Mentha Spicata* L. and Soil Microbiota to Silver Nanoparticles and the Associated Risk of Herbal Tea Contamination. In: *Physics of Particles and Nuclei Letters*. 2026. vol. 23, nr. 1, pp. 57–64. Electronic ISSN: 1531-8567. Print ISSN: 1547-4771. DOI: 10.1134/S154747712601005X.
295. YAN, A., CHEN, Z. Impacts of Silver Nanoparticles on Plants: A Focus on the Phytotoxicity and Underlying Mechanism. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. vol. 20, nr. 5, pp. 23–25. Electronic ISSN: 1422-0067. Print ISSN: 1661-6596. DOI: 10.3390/ijms20051003.
296. SACHDEV, S., AHMAD, S. Role of Nanomaterials in Regulating Oxidative Stress in Plants. In: *Nanobiotechnology: Mitigation of Abiotic Stress in Plants*. 2021, pp. 305–326. Electronic ISBN: 978-3-030-73606-4. Print ISBN: 978-3-030-73608-8 DOI: 10.1007/978-3-030-73606-4_13.
297. NOORI, A., HASANUZZAMAN, M., ROYCHOWDHURY, R., SARRAF, M., et al. Silver Nanoparticles in Plant Health: Physiological Response to Phytotoxicity and Oxidative Stress. In: *Plant Physiology and Biochemistry*. 2024. vol. 213, p. 108538. Electronic ISSN: 1873-2690. Print ISSN: 0981-9428. DOI: 10.1016/j.plaphy.2024.108538.
298. WANG, P., LOMBI, E., ZHAO, F. J., KOPITKE, P. M. Nanotechnology: A New Opportunity in Plant Sciences. In: *Trends in Plant Science*. 2016. vol. 21, nr. 8, pp. 699–712. Electronic ISSN: 1878-4372. Print ISSN: 1360-1385. DOI: 10.1016/j.tplants.2016.04.005.
299. JAHANI, S., SAADATMAND, S., MAHMOODZADEH, H., KHAVARI-NEJAD, R. A. Effect of Foliar Application of Cerium Oxide Nanoparticles on Growth, Photosynthetic Pigments, Electrolyte Leakage, Compatible Osmolytes and Antioxidant Enzymes Activities of *Calendula Officinalis* L. In: *Biologia*. 2019. vol. 74, nr. 9, pp. 1063–1075. Electronic ISSN: 1336-9563. Print ISSN: 0006-3088. DOI: 10.2478/s11756-019-00239-6.
300. TOKARZ, K. M., MAZUR, T., HANULA, M., MAKOWSKI, W., et al. Effect of Silver Nanoparticles Foliar Application on the Nutritional Properties of Potato Tubers. In: *Scientific Reports*. 2024. vol. 14, nr. 1, pp. 1–15. Electronic ISSN: 2045-2322. Print ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-024-73096-2.
301. XIONG, T., ZHANG, T., XIAN, Y., KANG, Z., et al. Foliar Uptake, Biotransformation, and Impact of CuO Nanoparticles in *Lactuca Sativa* L. var. *Ramosa* Hort. In: *Environmental Geochemistry and Health*. 2021. vol. 43, nr. 1, pp. 423–439. Electronic ISSN: 1573-2983. Print ISSN: 0269-4042. DOI: 10.1007/s10653-020-00734-9.

302. HAICHAR, F. E. Z., SANTAELLA, C., HEULIN, T., ACHOUAK, W. Root Exudates Mediated Interactions Belowground. In: *Soil Biology and Biochemistry*. 2014. vol. 77, pp. 69–80. Electronic ISSN: 1879-3428. Print ISSN: 0038-0717. DOI: 10.1016/j.soilbio.2014.06.017.
303. CEPOI, L., PESHKOVA, A., ZINICOVSCAIA, I., RUDI, L., et al. Translocation of Nano-Gold, -Silver and -Copper in *Calendula Officinalis* L. Tissues Under Foliar Exposure. In: *International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering*. Springer, 2025, pp. 436–445. DOI: 10.1007/978-3-031-79631-9_45.
304. JOSHI, S., DAR, A. I., ACHARYA, A., JOSHI, R. Charged Gold Nanoparticles Promote In Vitro Proliferation in *Nardostachys Jatamansi* by Differentially Regulating Chlorophyll Content, Hormone Concentration, and Antioxidant Activity. In: *Antioxidants*. 2022. vol. 11, nr. 10, p. 1962. Electronic ISSN: 2076-3921. Print ISSN: 2076-3921. DOI: 10.3390/antiox11101962.
305. TEJADA-ALVARADO, J. J., MELÉNDEZ-MORI, J. B., AYALA-TOCTO, R. Y., GOÑAS, M., et al. Influence of Silver Nanoparticles on Photosynthetic Pigment Content and Mineral Uptake in Pineapple Seedlings Grown In Vitro Under Aluminum Stress. In: *Agronomy*. 2023. vol. 13, nr. 5, p. 1186. Electronic ISSN: 2073-4395. Print ISSN: 2073-4395. DOI: 10.3390/agronomy13051186.
306. ANSARI, M., AHMED, S., ABBASI, A., KHAN, M. T., et al. Plant Mediated Fabrication of Silver Nanoparticles, Process Optimization, and Impact on Tomato Plant. In: *Scientific Reports*. 2023. vol. 13, nr. 1, pp. 1–19. Electronic ISSN: 2045-2322. Print ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-023-45038-x.
307. RAZA, M. A. S., AMIN, J., VALIPOUR, M., IQBAL, R., et al. Cu-Nanoparticles Enhance the Sustainable Growth and Yield of Drought-Subjected Wheat Through Physiological Progress. In: *Scientific Reports*. 2024. vol. 14, nr. 1, pp. 1–10. Electronic ISSN: 2045-2322. Print ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-024-62680-1.
308. IVASK, A., KURVET, I., KASEMETS, K., BLINOVA, I., et al. Size-Dependent Toxicity of Silver Nanoparticles to Bacteria, Yeast, Algae, Crustaceans and Mammalian Cells In Vitro. In: *PLoS ONE*. 2014. vol. 9, nr. 7, p. e102108. Electronic ISSN: 1932-6203. Print ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0102108.
309. WAIRICH, A., DE CONTI, L., LAMB, T. I., KEIL, R., et al. Throwing Copper Around: How Plants Control Uptake, Distribution, and Accumulation of Copper. In: *Agronomy*. 2022. vol. 12, nr. 5, pp. 1–29. Electronic ISSN: 2073-4395. Print ISSN: 2073-4395. DOI: 10.3390/agronomy12050994.
310. XIAO, Y., MA, J., XIAN, J., PEIJNENBURG, W. J. G. M., et al. Copper Accumulation and Physiological Markers of Soybean (*Glycine Max*) Grown in Agricultural Soil Amended with Copper Nanoparticles. In: *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2022. vol. 229, p. 113088. Electronic ISSN: 1090-2414. Print ISSN: 0147-6513. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.113088.
311. LUO, X., CAO, J. Discovery of Nano-Sized Gold Particles in Natural Plant Tissues. In: *Environmental Chemistry Letters*. 2018. vol. 16, nr. 4, pp. 1441–1448. Electronic ISSN: 1610-3661. Print ISSN: 1610-3653. DOI: 10.1007/s10311-018-0749-0.
312. GLENN, J. B., WHITE, S. A., KLAINE, S. J. Interactions of Gold Nanoparticles with Freshwater Aquatic Macrophytes Are Size and Species Dependent. In: *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2012. vol. 31, nr. 1, pp. 194–201. Electronic ISSN: 1552-8618. Print ISSN: 0730-7268. DOI: 10.1002/etc.728.
313. REITH, F., CORNELIS, G. Effect of Soil Properties on Gold- and Platinum Nanoparticle Mobility. In: *Chemical Geology*. 2017. vol. 466, pp. 446–453. Electronic ISSN: 1872-6836. Print ISSN: 0009-2541. DOI: 10.1016/j.chemgeo.2017.06.033.
314. ABBAS, Q., LIU, G., YOUSAF, B., ALI, M. U., et al. Effects of Biochar on Uptake, Acquisition and Translocation of Silver Nanoparticles in Rice (*Oryza Sativa* L.) in Relation to Growth, Photosynthetic Traits and Nutrients Displacement. In: *Environmental Pollution*. 2019. vol. 250, pp. 728–736. Electronic ISSN: 1873-6424. Print ISSN: 0269-7491. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.04.083.

315. DU, W., GARDEA-TORRESDEY, J. L., JI, R., YIN, Y., et al. Physiological and Biochemical Changes Imposed by CeO₂ Nanoparticles on Wheat: A Life Cycle Field Study. In: *Environmental Science and Technology*. 2015. vol. 49, nr. 19, pp. 11884–11893. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/acs.est.5b03055.
316. WANG, J., KOO, Y., ALEXANDER, A., YANG, Y., et al. Phytostimulation of Poplars and Arabidopsis Exposed to Silver Nanoparticles and Ag⁺ at Sublethal Concentrations. In: *Environmental Science and Technology*. 2013. vol. 47, nr. 10, pp. 5442–5449. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/es4004334.
317. MUSANTE, C., WHITE, J. C. Toxicity of Silver and Copper to Cucurbita Pepo: Differential Effects of Nano and Bulk-Size Particles. In: *Environmental Toxicology*. 2012. vol. 27, nr. 9, pp. 510–517. Electronic ISSN: 1522-7278. Print ISSN: 1520-4081. DOI: 10.1002/tox.20667.
318. SHANG, H., GUO, H., MA, C., LI, C., et al. Science of the Total Environment Maize (*Zea Mays* L.) Root Exudates Modify the Surface Chemistry of CuO Nanoparticles: Altered Aggregation, Dissolution and Toxicity. In: *Science of the Total Environment*. 2019. vol. 690, pp. 502–510. Electronic ISSN: 1879-1026. Print ISSN: 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.07.017.
319. MANAF, A., WANG, X., TARIQ, F., JHANZAB, H. M., et al. Antioxidant Enzyme Activities Correlated with Growth Parameters of Wheat Sprayed with Silver and Gold Nanoparticle Suspensions. In: *Agronomy*. 2021. vol. 11, nr. 8, p. 1494. Electronic ISSN: 2073-4395. Print ISSN: 2073-4395. DOI: 10.3390/agronomy11081494.
320. SHAH, S. W. A., JAHANGIR, M., QAISAR, M., KHAN, S. A., et al. Storage Stability of Kinnow Fruit (*Citrus Reticulata*) as Affected by CMC and Guar Gum-Based Silver Nanoparticle Coatings. In: *Molecules*. 2015. vol. 20, nr. 12, pp. 22645–22661. Electronic ISSN: 1420-3049. Print ISSN: 1420-3049. DOI: 10.3390/molecules201219870.
321. MAWALE, K. S., NANDINI, B., GIRIDHAR, P. Copper and Silver Nanoparticle Seed Priming and Foliar Spray Modulate Plant Growth and Thrips Infestation in Capsicum spp. In: *ACS Omega*. 2023. vol. 8, nr. 51, pp. 49377–49388. Electronic ISSN: 2470-1343. Print ISSN: 2470-1343. DOI: 10.1021/acsomega.3c06961.
322. ELBANNA, H. M., AHMED, O. K., FAYED, S. A. K., HAMMAM, K. A. M., et al. Enhancing French Basil Growth Through Synergistic Foliar Treatment with Copper Nanoparticles and Spirulina sp. In: *BMC Plant Biology*. 2024. vol. 24, nr. 1, pp. 1–14. Electronic ISSN: 1471-2229. Print ISSN: 1471-2229. DOI: 10.1186/s12870-024-05153-x.
323. RALIYA, R., FRANKE, C., CHAVALMANE, S., NAIR, R., et al. Quantitative Understanding of Nanoparticle Uptake in Watermelon Plants. In: *Frontiers in Plant Science*. 2016. vol. 7, pp. 1–10. Electronic ISSN: 1664-462X. Print ISSN: 1664-462X. DOI: 10.3389/fpls.2016.01288.
324. FEICHTMEIER, N. S., WALTHER, P., LEOPOLD, K. Uptake, Effects, and Regeneration of Barley Plants Exposed to Gold Nanoparticles. In: *Environmental Science and Pollution Research*. 2015. vol. 22, nr. 11, pp. 8549–8558. Electronic ISSN: 1614-7499. Print ISSN: 0944-1344. DOI: 10.1007/s11356-014-4015-0.
325. WILD, E., JONES, K. C. Novel Method for the Direct Visualization of in Vivo Nanomaterials and Chemical Interactions in Plants. In: *Environmental Science and Technology*. 2009. vol. 43, nr. 14, pp. 5290–5294. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/es900065h.
326. WU, J., WANG, G., VIJVER, M. G., BOSKER, T., et al. Foliar Versus Root Exposure of AgNPs to Lettuce: Phytotoxicity, Antioxidant Responses and Internal Translocation. In: *Environmental Pollution*. 2020. vol. 261, p. 114117. Electronic ISSN: 1873-6424. Print ISSN: 0269-7491. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.114117.
327. XIONG, T., DUMAT, C., DAPPE, V., VEZIN, H., et al. Copper Oxide Nanoparticle Foliar Uptake, Phytotoxicity, and Consequences for Sustainable Urban Agriculture. In: *Environmental Science and Technology*. 2017. vol. 51, nr. 9, pp. 5242–5251. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/acs.est.6b05546.

328. BIRBAUM, K., BROGIOLI, R., SCHELLENBERG, M., MARTINOIA, E., et al. No Evidence for Cerium Dioxide Nanoparticle Translocation in Maize Plants. In: *Environmental Science and Technology*. 2010. vol. 44, nr. 22, pp. 8718–8723. Electronic ISSN: 1520-5851. Print ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/es101685f.
329. LAVRINENKO, Y., PLIEVA, A., ZINICOVSCAIA, I., HRISTOZOVA, G., et al. Elemental Composition of Infusions of Herbs (Tisanes) of North Ossetia (the Caucasus). In: *Agriculture (Switzerland)*. 2021. vol. 11, nr. 9, p. 841. Electronic ISSN: 2077-0472. Print ISSN: 2077-0472. DOI: 10.3390/agriculture11090841.
330. EFSA PANEL ON FOOD ADDITIVES AND NUTRIENT SOURCES ADDED TO FOOD (ANS). Scientific Opinion on the Re-evaluation of Gold (E 175) as a Food Additive. In: *EFSA Journal*. 2016. vol. 14, nr. 1, p. 4362. Electronic ISSN: 1831-4732. Print ISSN: 1831-4732. DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4362.
331. CEPOI, L., RUDI, L., CHIRIAC, T., ZINICOVSCAIA, I., et al. Effect of Gold Nanoparticles Functionalized by *Arthrospira Platensis* on Rats. In: *International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering*. Springer, 2023, pp. 366–375. DOI: 10.1007/978-3-031-42775-6_37.
332. US EPA. Nanomaterial Case Study: Nanoscale Silver in Disinfectant Spray. In: *Environmental Assessment*. 2012. pp. 423.
333. SHARMA, P., BHATT, D. Silver Nanoparticle-Mediated Enhancement in Growth and Antioxidant Status of *Brassica Juncea*. In: *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2012. vol. 167, nr. 8, pp. 2225–2233. Electronic ISSN: 1559-0291. Print ISSN: 0273-2289. DOI: 10.1007/s12010-012-9759-8.
334. TRIPATHI, A., LIU, S., SINGH, P. K., KUMAR, N., et al. Differential Phytotoxic Responses of Silver Nitrate (AgNO_3) and Silver Nanoparticle (AgNPs) in *Cucumis Sativus* L. In: *Plant Gene*. 2017. vol. 11, pp. 255–264. Electronic ISSN: 2352-4073. Print ISSN: 2352-4073. DOI: 10.1016/j.plgene.2017.07.005.
335. KHAN, I., RAZA, M. A., HAYDER, M., KHALID, B., et al. Physiological and Biochemical Responses of Pearl Millet (*Pennisetum Glaucum* L.) Seedlings Exposed to Silver Nitrate (AgNO_3) and Silver Nanoparticles (AgNPs). In: *Scientific Reports*. 2024. vol. 14, nr. 1, p. 23049. Electronic ISSN: 2045-2322. Print ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-024-73247-5.
336. GEISLER-LEE, J., BROOKS, M., GERFEN, J. R., WANG, Q., et al. Reproductive Toxicity and Life History Study of Silver Nanoparticle Effect, Uptake and Transport in *Arabidopsis Thaliana*. In: *Nanomaterials*. 2014. vol. 4, nr. 2, pp. 301–318. Electronic ISSN: 2079-4991. Print ISSN: 2079-4991. DOI: 10.3390/nano4020301.
337. WHO. Increasing fruit and vegetable consumption to reduce the risk of noncommunicable diseases. In: *e-Library of Evidence for Nutrition Actions (eLENA)* [online]. 2023 [cit. 14.03.2026]. Available from: <https://www.who.int/tools/elena/interventions/fruit-vegetables-ncds>
338. LAMPORT, D. J., WU, S. Y., DREVER-HEAPS, J., HUGUENIOT, O., et al. Can Public Health Interventions Change Immediate and Long-Term Dietary Behaviours? Encouraging Evidence from a Pilot Study of the U.K. Change4Life Sugar Swaps Campaign. In: *Nutrients*. 2022. vol. 14, nr. 1, p. 68. Electronic ISSN: 2072-6643. Print ISSN: 2072-6643. DOI: 10.3390/nu14010068.
339. FEDOROV, V. N., KIZEEV, A. N., NOVIKOVA, Y. A., TIKHONOVA, N. A., et al. Assessment of Health Impact of Heavy Metals Contained in Wild Berries of Shrubs for the Population of the Murmansk Region. In: *Public Health and Life Environment – PH&LE*. 2022. vol. 30, nr. 5, pp. 41–50. Electronic ISSN: 2619-0452. Print ISSN: 2619-0444. DOI: 10.35627/2219-5238/2022-30-5-41-50.
340. PESHKOVA, A., ZINICOVSCAIA, I., GORELOVA, S., CEPOI L. Effects of Copper, Gold and Silver Nanoparticles on *Mentha spicata* L. Under Field Conditions. *BioNanoSci.* 16, 358 (2026). <https://doi.org/10.1007/s12668-026-02608-3>
341. PESHKOVA, A., ZINICOVSCAIA, I., CEPOI, L., RUDI, L., et al. Evaluation of the Effects of High Silver and Copper Nanoparticle Concentrations on *Vaccinium Myrtillus* L. Under Field

ДЕКЛАРАЦИЯ ОБ ОТВЕТСТВЕННОСТИ

Нижеподписавшийся, заявляю под личную ответственность, что материалы, представленные в кандидатской диссертации, являются результатом личных научных исследований и разработок. Осознаю, что в противном случае, буду нести ответственность в соответствии с действующим законодательством.

Александра Пешкова

Подпись



Число 27.07.2026

РЕЗЮМЕ

Имя, Фамилия	Александра Пешкова	
Адрес	141985 Россия, Московская обл., г. Дубна, ул. Московская, 10-76	
Телефон	+7(999)8534461	
Е-mail	peshkova.alexandra92@gmail.com	
Национальность	русский	
Дата рождения	22 августа 1992	
Пол	женский	
Языки:	русский – родной, английский – А2	
Обучение		
2009 – 2013	Бакалавр, МУПОЧ «Дубна»	
2013 – 2015	Магистр, МУПОЧ «Дубна»	
2022 – 2026	PhD студент, Молдавский Государственный Университет	
Карьера		
2021– 2025	Инженер СНААПИ ОЯФ ЛНФ ОИЯИ	
2025 – н.в.	Младший научный сотрудник СНААПИ ОЯФ ЛНФ ОИЯИ	
Специализация	Элементный анализ, нанотоксикология, биомониторинг	
Участие в проектах		
2024-2028	Проект «Нейтронная ядерная физика» - 03-4-1146-2024/2028 (исполнитель)	
2025	Грант для молодых ученых и специалистов ОИЯИ - 24-401-07 (руководитель)	
Награды		
2023	Золотая медаль на Европейской выставке творчества и инноваций EUROINVENT-2023, Яссы, Румыния (Application of edaphic cyanobacteria <i>Nostoc linckia</i> for chromium in association with other heavy-metals-contaminated soils bioremediation under conditions of repeated pollution)	
2023	Медаль за выдающиеся инновации на Европейской выставке творчества и инноваций EUROINVENT-2023, Яссы, Румыния (Accumulation and Effect of Silver Nanoparticles Functionalized with <i>Spirulina platensis</i> on Rats)	
2024	Серебряная медаль на Европейской выставке творчества и инноваций EUROINVENT-2024, Яссы, Румыния (Accumulation and translocation of copper and gold nanoparticles in <i>Petroselinum crispum</i> segments under root irrigation conditions)	

2025	Серебряная медаль на на Европейской выставке творчества и инноваций EUROINVENT-2025 (Impact of metal-containing industrial effluents on the leafy and root vegetables and potential health risk associated with their consumption)
2025	Третья премия на конкурсе научных, методических и прикладных работ ЛНФ 2025 за цикл работ «Комплексная оценка воздействия наночастиц на растения: накопление, влияние на биохимический состав и трофический перенос».
2025	Третья премия на конкурсе на соискание Премий ОИЯИ для молодых ученых и специалистов за 2025 год в номинации «Научно-технические прикладные работы».
2026	Третья премия ОИЯИ за цикл работ «Комплексная оценка воздействия наночастиц на растения: накопление, влияние на биохимический состав и трофический перенос».
Публикации	
Количество статей в международных журналах	29
Количество сообщений на научных совещаниях	11