

Федеральное бюджетное учреждение науки
«Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики
и охраны здоровья рабочих промпредприятий»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека

На правах рукописи

РУЗАКОВ

Вадим Олегович

**ПОДХОДЫ К ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ ПРОМЫШЛЕННЫХ
АЭРОЗОЛЕЙ СЛОЖНОГО СОСТАВА С СОДЕРЖАНИЕМ
НАНОЧАСТИЦ ПРИ ПЛАВКЕ МЕДИ**

3.2.1. — Гигиена

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель —
доктор медицинских наук
Гурвич Владимир Борисович

Екатеринбург—2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....		5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ.....		15
1.1. Распространённость и биологические эффекты наноматериалов.....		15
1.2. Медь и ее свойства в живых организмах.....		24
1.3. Особенности влияния наночастиц меди на организм.....		29
Резюме.....		34
Глава 2. ОБЩАЯ МЕТОДОЛОГИЯ И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ....		36
2.1. Схема организации исследований.....		36
2.1.1. Характеристика объектов предприятия, оценка факторов производственной среды и трудового процесса.....		38
2.1.2. Отбор проб воздуха на рабочих местах с помощью аппаратных методов.....		39
2.1.3. Качественная и количественная оценка состава аэрозоля. Визуализация наночастиц.....		48
2.2. Оценка возможных биологических (токсических) эффектов воздействия наночастиц меди путем субхронической внутрибрюшинной затравки исследуемых частиц белым аутбредным крысам.....		54
2.3. Оценка состояния здоровья работников предприятия.....		58
2.3.1. Анкетный опрос и интервью работников предприятия.....		61
2.3.2. Отбор групп рабочих для исследования.....		62
2.3.3. Статистическая обработка результатов.....		63
Резюме.....		64
Глава 3. УСЛОВИЯ ТРУДА НА РАЗЛИЧНЫХ ЭТАПАХ ПЕРЕРАБОТКИ МЕДЬСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ.....		64

3.1. Описание технологических процессов и оценка условий труда на различных этапах переработки медьсодержащего сырья	64
3.1.1. Медеплавильный цех.....	64
3.1.2. Цех медной катанки.....	68
3.1.3. Цех медных порошков.....	72
Резюме.....	76
Глава 4. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ДИСПЕРСНЫЙ СОСТАВ АЭРОЗОЛЕЙ.....	77
4.1. Исследование дисперсного и химического состава аэрозолей оценки экспозиции к наночастицам меди в условиях производства.....	77
4.1.1. Цех производства медных порошков. Рабочее место оператора узла затарки.....	80
4.1.2. Медеплавильный цех. Рабочее место разлищика и плавильщика при плавке черновой меди.....	83
4.1.3. Рабочее место разлищика при плавке катодной меди.....	85
4.1.4. Оценка растворимости макро- и наночастиц в биологической жидкости.....	88
Резюме.....	90
Глава 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ВОЗМОЖНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ (ТОКСИЧЕСКИХ) ЭФФЕКТОВ.....	92
5.1. Результаты эксперимента по внутрибрюшинному введению исследуемых частиц крысам.....	92
5.1.1. Результаты внутрибрюшинных инъекций.....	92
5.1.2. Оценка показателей токсичности.....	93
5.2. Результаты обследования работников металлургического производства.....	98
5.3. Предложения по нормированию наночастиц.....	102
Резюме.....	104

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	105
ВЫВОДЫ.....	107
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	109
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	110
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	111
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	113

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследований

Активное внедрение нанотехнологий в самых различных производственных сферах является одним из наиболее значимых направлений развития мировой экономики 21 века. В то же время риски, сопутствующие внедрению новых технологических процессов, связанные с производством и использованием наноматериалов, стали предметом пристального изучения научного сообщества.

На данный момент к наноматериалам условно причисляют объекты, линейные размеры которых в любой плоскости составляют менее 100 нанометров [33; 63]. Учитывая нехарактерные для обычных материалов свойства, наноматериалы могут быть выделены в отдельную группу, требующую учета их специфических характеристик в ходе эксплуатации [58; 75; 83].

Необходимо отметить, что наночастицы (НЧ) являются сопутствующим фактором уже существующих технологий. Например, металлургические процессы и иные процессы, связанные с фазовым переходом из жидкости в газ и обратно, характеризуются образованием частиц различных размеров, в том числе наночастиц. Сегодня степень их распространённости в экономике существенно превосходит индустрию производства и применения синтетических наноматериалов [96].

Принимая во внимания накопленный массив данных о потенциальной опасности наночастиц [111; 117; 124; 128; 133; 146; 200], перед научным сообществом стоит задача изменения и расширения базовых подходов к изучению безопасности процессов, сопровождающих выделение наночастиц. Наноматериалы обладают рядом особенностей, в частности, имеют более высокую площадь активной поверхности относительно общего объёма, что позволяет располагать существенно большим потенциалом к повреждению биологических объектов [26; 29; 32; 33; 58; 118].

Кроме того, отдельная и не менее важная проблема как для прикладной, так и для фундаментальной токсикологии — это изучение особенностей воздействия наноматериалов на основе химических веществ, которые являются нормальными и необходимыми участниками обменных процессов в организме. В отличие от относительно химически стабильных наноматериалов на основе таких инертных металлов, как золото и серебро, или специально синтезированных частиц на основе углерода (фуллеренов и углеродных трубок), наночастицы металлов не могут рассматриваться только со стороны эффектов, реализуемых исключительно в силу их наноразмерных величин, необходимо учитывать их общетоксические эффекты, которые могут быть реализованы каким-либо образом в ходе биотрансформации при взаимодействии живого организма с этими частицами [92; 94; 143].

Одним из наиболее используемых в современной промышленности металлов как в чистом виде, так и в виде соединений, является медь, при этом она же является ключевым элементом многих ферментов и жизненно необходима для протекания значительного количества биохимических реакций в живом организме. На данный момент известно по крайней мере о 21 медьсодержащем ферменте, которые функционируют как окислительно-восстановительные катализаторы (например, цитохром-оксидаза, моноамин-оксидаза) или переносчики кислорода (например, гемоцианин) [22; 131].

С другой стороны, избыточные концентрации меди замедляют жизненные процессы организма, дезактивируя ферменты, путем перехода эндоплазматических белков в металлические протоинаты [106; 180].

Активное применение меди в промышленности создаёт предпосылки для поступления меди в окружающую среду в ходе хозяйственной деятельности человека. Основными источниками поступления меди в окружающую среду, в том числе в воздух рабочей зоны, являются предприятия цветной металлургии (среди них процессы нанесения защитных покрытий на поверхности), предприятия химической промышленности, сельское хозяйство, объекты транспортной инфраструктуры, сжигание ископаемого топлива, системы катализа в различных отраслях промышленности. Так, предварительные оценки поступления меди в

окружающую среду в ходе антропогенной деятельности оценивается в объёме 230 тыс. тон, из них треть составляет отходы, около 95 тыс. тон вносится в почву в виде агрохимии, остальное поступает в атмосферу [21; 22; 150]. При этом существующие нормативы содержания меди как в воздухе рабочей зоны, так и в атмосферном воздухе основаны на общетоксических эффектах и в значительной степени — на фиброгенных эффектах аэрозоля. Особенности воздействия меди в сочетании с другими химическими веществами в условиях промышленного производства, тем более учёт фракционного состава аэрозоля в зависимости от особенностей частиц (размер, форма, заряд и пр.) не учитывались при разработке нормативов [1].

В целом существующие подходы в нормировании аэрозолей в воздухе рабочей зоны не предполагают учет дисперсного состава аэрозолей за исключением оценки отдельных, искусственно созданных частиц с заданными геометрическими параметрами. Даная ситуация складывается ввиду отсутствия информации о дисперсном составе аэрозолей в реальном секторе экономики и оценки эффектов воздействия отдельных фракций частиц аэрозоля на здоровье работающих.

Также отдельной проблемой в изучении частиц различного размера в условиях действующих производств является отсутствие массовых и доступных методов оценки дисперсного состава аэрозоля, постоянная изменчивость аэрозоля в ходе технологических процессов и необходимость учета индивидуальных доз для оценки возможных эффектов [2; 3; 4].

В настоящее время с точки зрения задач гигиены труда, возникающих в связи с развитием нанотехнологических производств, для дальнейшего успешного развития нанотехнологий наиболее важным является решение вопроса об ограничении поступления и накопления наночастиц в объектах окружающей среды, т.е. их гигиеническое нормирование [6; 7; 9].

На данный момент в условиях недостаточного объема научных знаний о наночастицах и малоприменимости классических гравиметрических методов для целей исследования аэрозолей наночастиц в условиях реальных производств

практически отсутствует информация о реальных производственных экспозициях наночастиц в воздухе рабочей зоны, особенно на предприятиях, расположенных в Российской Федерации. Также не решён вопрос с выбором маркеров медико-биологических эффектов воздействия наночастиц.

Таким образом, актуальность настоящего исследования определяется следующим:

1. Широкой распространённостью наночастиц при осуществлении технологических процессов в реальном секторе экономики.
2. Отсутствием единых подходов к методам гигиенической оценки аэрозоля экспозиции наночастиц в воздухе рабочей зоны.
3. Недостатком информации о возможных эффектах наночастиц для здоровья работающих на металлургических предприятиях, в частности при переработке меди.

Цель работы

Оценка возможных биологических эффектов и воздействия на здоровье работающих наночастиц, содержащихся в составе аэрозолей, на предприятиях, осуществляющих плавку меди.

Задачи исследования

1. Провести гигиеническую оценку условий труда на рабочих местах, изучить дисперсный состав и физико-химические свойства аэрозоля, образующегося при плавке меди в условиях производства.
2. Провести экспериментальное сравнительное токсико-гигиеническое исследование воздействия наночастиц и микрочастиц на лабораторных животных.
3. Дать характеристику влияния наночастиц меди в составе аэрозолей воздуха рабочей зоны на здоровье работников и обосновать биомаркеры воздействия.

4. Разработать предложения по обоснованию гигиенических нормативов содержания наночастиц меди в воздухе рабочей зоны.

Научная новизна исследования

По результатам проведенных исследований доказано наличие наночастиц меди в воздухе рабочей зоны в составе аэрозоля конденсации на предприятии, осуществляющем плавку меди. Показано различие дисперсного состава аэрозоля в зависимости от реализуемого технологического процесса, а именно преобладание наночастиц в аэрозоле конденсации пирометаллургического предела меди и практически полное их отсутствие в составе аэрозолей дезинтеграции.

В эксперименте на лабораторных животных показана более высокая токсичность наночастиц по сравнению с микрочастицами меди, выраженная в изменении состояния организма: снижении уровня гемоглобина, повышении количества ретикулоцитов; снижении активности СДГ и МДА в крови, повышении копропорфирина в моче, росте количества клеток Купфера и замедлении репаративной активности гепатоцитов. В головном мозге отмечается поражение структуры нейронов базальных ядер, и увеличение количества безъядрышковых клеток Гольджи II типа.

Показано, что в условиях воздействия аэрозолей меди с повышением доли наночастиц в общей массе аэрозоля у работников основных профессий металлургического производства отмечается достоверное нарастание концентрации церулоплазмينا в крови, при этом основное значение имеет содержание соединений меди в виде наночастиц, а не общая концентрация меди в воздухе рабочей зоны. В связи с этим уровень церулоплазмينا в крови может использоваться как маркер воздействия наночастиц меди на организм человека при ингаляционном поступлении.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Результаты исследования способствуют реализации значимой гигиенической задачи сохранения здоровья трудоспособного населения и могут быть использованы для планирования и проведения гигиенических, токсикологических экспериментов, а также эпидемиологических исследований среди работников предприятий, имеющих контакт с наночастицами меди.

Результаты исследования будут использоваться при оценке рисков воздействия наночастиц на здоровье работников металлургических предприятий.

Разработаны Методические указания МУ 1.2.3699-21 «Подходы к экспериментально-токсикологическому обоснованию предельно допустимых концентраций наночастиц в воздухе рабочей зоны».

Материалы исследования применялись при разработке СП 2.2.3670-20 «Санитарно-эпидемиологические требования к условиям труда».

Предложен и направлен в адрес комиссии по гигиеническому нормированию среднесменный ОБУВ $0,05 \text{ мг/м}^3$ для медно-меднооксидных аэрозолей конденсации, состоящих преимущественно из субмикронных частиц (включая частицы нанометрового диапазона).

Обоснована возможность применения фильтров АФА-ВП для полного захвата всех частиц аэрозоля и существующих видов мембран для целей качественного и количественного исследования состава аэрозолей методами атомно-силовой электронной микроскопии и рентгеноструктурного анализа.

Результаты исследований используются в практической деятельности учреждений Роспотребнадзора Свердловской области по направлению «гигиена труда», при реализации образовательных программ для ординаторов, аспирантов и врачей, проходящих обучение в ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора», при выделении групп риска и оценке воздействия в ходе проведения предварительных и периодических медицинских осмотров предприятий цветной металлургии.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования будут использоваться при оценке рисков воздействия наночастиц на здоровье работников металлургических предприятий.

Разработаны Методические указания МУ 1.2.3699-21 «Подходы к экспериментально-токсикологическому обоснованию предельно допустимых концентраций наночастиц в воздухе рабочей зоны».

Материалы исследования применялись при разработке СП 2.2.3670-20 «Санитарно-эпидемиологические требования к условиям труда».

Предложен и направлен в адрес комиссии по гигиеническому нормированию среднесменный ОБУВ 0,05 мг/м³ для медно-меднооксидных аэрозолей конденсации, состоящих преимущественно из субмикронных частиц (включая частицы нанометрового диапазона).

Обоснована возможность применения фильтров АФА-ВП для полного захвата всех частиц аэрозоля и существующих видов мембран для целей качественного и количественного исследования состава аэрозолей методами атомно-силовой электронной микроскопии и рентгеноструктурного анализа.

Результаты исследований используются в практической деятельности учреждений Роспотребнадзора Свердловской области по направлению «гигиена труда»; при реализации образовательных программ для студентов ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, ординаторов, аспирантов и врачей, проходящих обучение в ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора»; при выделении групп риска и оценке воздействия в ходе проведения предварительных и периодических медицинских осмотров предприятий цветной металлургии.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Наночастицы меди присутствуют в воздухе рабочих зон в составе аэрозоля конденсации на предприятиях, осуществляющих плавку меди.

Наибольшая массовая доля частиц в аэрозоле конденсации пирометаллургического предела меди представлена частицами нанометрового диапазона. Дисперсный состав частиц представлен преобладающей фракцией 50–150 нм.

2. Основным параметром, определяющим биологические эффекты аэрозоля при плавке меди, является доля наночастиц от общей массы аэрозоля.

3. Проведенные эксперименты *in vivo* указывают на более высокую токсичность наночастиц меди по сравнению с микрочастицами.

4. Исходя из результатов исследований и принципа нормирования ориентировочно безопасного содержания различных наночастиц в воздухе рабочей зоны, предлагается установить среднесменный ОБУВ 0,05 мг/м³ для медно-меднооксидных аэрозолей конденсации, состоящих преимущественно из частиц нанометрового диапазона.

5. Показатели изменения церулоплазмينا в крови могут использоваться в качестве маркера экспозиции к наночастицам.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов диссертационной работы, научных положений, выводов и рекомендаций определены дизайном исследования, адекватным выбором методологии с использованием современных методов исследования, достаточным объемом полученной информации, соблюдением принципов доказательной медицины.

Материалы диссертационного исследования доложены на Всероссийской научно-практической конференции «Медико-профилактические мероприятия в управлении химическими рисками» (г. Екатеринбург, 2014 г.); Международном конгрессе «51st Congress of the European Societies of Toxicology Bridging Sciences for Safety» (г. Порто, Португалия, 14-16 сентября 2015 г.); Международном семинаре по современным нанотехнологиям (г. Екатеринбург, 27-29 августа 2015 г.); 2-ом международном конгрессе по безопасности искусственных наночастиц и нанотехнологий «SENN2015» (г. Екатеринбург, 2015 г.); Международном

конгрессе «NanobioTox-2016» (Ираклион, Крит, Греция, 8-15 мая 2016 г.); 8-ом международном конгрессе по нанотехнологиям (Бостон, США, 1-4 июня 2016 г.); 2-ой международной рабочей группе «Modern Nanotechnologies» (г. Екатеринбург, 27-29 августа 2016 г.); Международной конференции «Scanning Probe Microscopy – 2018» (г. Екатеринбург, 26-29 августа 2018 г.); 16-м Российском национальном конгрессе с международным участием «Профессия и здоровье» (г. Владивосток, 2021 г.).

Диссертационная работа апробирована и обсуждена на заседании Учёного совета ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора (протокол № 3/2022 от 02 августа 2022 г.).

Публикации

Основное содержание диссертационного исследования достаточно полно отражено в автореферате и в 6 научных работах соискателя, в том числе 5 публикаций — в изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве образования и науки РФ для публикации результатов диссертационных исследований.

Степень личного участия

Автором составлен план исследования, проанализированы литературные источники по проблеме, проведена гигиеническая оценка и отобраны пробы воздуха на рабочих местах по переработке медьсодержащего сырья. Лично проведен сбор первичных данных и статистическая обработка полученных результатов. Гигиеническая оценка условий труда проводилась на базе испытательного лабораторного центра федерального бюджетного учреждения науки «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промышленных предприятий» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Электронная микроскопия и качественный анализ проб проводился силами УЦКП

«Современные нанотехнологии» федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина». Автором проведен статистический анализ полученных данных результатов медицинских обследований рабочих исследованных предприятий. Личный вклад автора в планирование, организацию, проведение исследований, анализ и изложение материала по всем разделам работы составляет не менее 85%.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста, состоит из введения, литературного обзора, методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы, содержащего 289 источников, в том числе 98 отечественных авторов и 191 зарубежного автора. Работа иллюстрирована 16 таблицами и 18 рисунками.

Глава 1.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ

1.1 Распространённость и биологические эффекты наноматериалов

Наноматериалы и технологические процессы, связанные с применением нанотехнологий, — одни из наиболее быстрорастущих направлений современной экономики. Их массовое внедрение создаёт дополнительные риски, в том числе для лиц, профессионально связанных с воздействием наночастиц в ходе осуществления ими трудовой деятельности [2; 3; 4; 5; 6; 7].

К наноматериалам условно причисляют совокупность материалов, содержащих структурные элементы массива любой формы вне зависимости от происхождения, геометрические размеры которых хотя бы в одном измерении не превышают 100 нанометров [33; 63]. По своим свойствам наноматериалы не могут быть отнесены к классическим материалам, поскольку характеризуются качественно новыми свойствами, эксплуатационными характеристиками, поведением во внешней среде и способами взаимодействия с другими материалами [111; 117; 124; 128; 133; 146; 200].

В настоящее время практическое применение наноматериалов реализуется в различных отраслях промышленности, наиболее распространёнными среди них являются:

- использование порошков наноразмерных фракций при изготовлении сплавов, обеспечивающих получение материалов, стойких к механическому и температурному воздействию, обладающих высоким потенциалом для использования в механообработке;

- адресное создание высокопрочных материалов, устойчивых к значительным статическим и динамическим нагрузкам (фуллерены, графен и нанотрубки на основе углерода);

- изменение поверхностных и фрикционных свойств материалов;

– порошковая металлургия (использование нанопорошков при производстве сплавов и изготовление готовых изделий спеканием порошков позволяют получать сверхтвердые сплавы и изделия сложной формы);

– получение высокоэффективных катализаторов;

– микроэлектроника;

– медицина и биотехнологии (за последние десятилетия наноматериалы нашли широкое применение в практическом здравоохранении и биомедицинских технологиях: использование апирогенных биоинтактных покрытий на протезах, антисептика и замена антибиотиков, цитологические исследования и практическая онкология).

Учитывая все более активное проникновение нанотехнологий в экономику, отмечается активный рост производства наноматериалов. Собственно возможный контакт и негативные эффекты при производстве наноматериалов в своё время стали отправной точкой для начала исследования воздействия наноматериалов на человека и окружающую среду. При этом существуют значительные различия в способах производства наноматериалов, оказывающих существенное влияние в том числе и на вопросы возможного их негативного воздействия [3; 29; 33; 35].

К ключевым технологиям получения наноматериалов можно отнести следующие процессы:

– порошковая металлургия;

– синтез высоких энергий;

– синтез наночастиц на основе плазмохимических технологий;

– осаждение наночастиц из жидких сред;

– золь-гель метод;

– жидкофазное восстановление из растворов;

– гидротермальный синтез;

– криохимические технологии разложения солей;

– термолиз нестабильных соединений;

– синтез с использованием ионизирующих излучений;

– использование восстановительных процессов;

- физическое осаждение наночастиц из парогазовой фазы;
- распыление расплава;
- механическая дезинтеграция.

Все представленные технологии направлены на получение и обработку целенаправленно созданных наноматериалов [75]. При этом наночастицы являются сопутствующим фактором уже существующих технологий и природных процессов. Metallургические и иные процессы, связанные с фазовым переходом из жидкости в газ и обратно, характеризуются образованием частиц различных размеров, в том числе наночастиц. Степень распространённости в экономике вышеуказанных процессов, характеризующихся образованием наночастиц, существенно превосходит индустрию производства и применения синтетических наноматериалов [96].

Несмотря на приоритетный вклад существующих технологических процессов как источников наночастиц, по сравнению с технологиями целенаправленного получения наноматериалов, исследования аэрозолей воздуха рабочей зоны с позиций оценки свойств и влияния на здоровье работающих практически отсутствуют. Имеющиеся исследования сосредоточены в первую очередь на технологиях получения синтетических наноматериалов, например, углеродных нанотрубок и полупроводниковой промышленности. Среди широко представленных технологических процессов изучение наночастиц осуществлялось в основном на технологиях сварки металлов. Исследования существующих свойств НЧ в составе металлургических аэрозолей носят спорадический характер [17; 32; 33].

Тем не менее, проблема загрязнения атмосферного воздуха ультрадисперсными частицами, их биологические эффекты и формирование отдельного блока нормирования в зависимости от линейных размеров частиц (10 μm (PM10) и 2.5 μm (PM2.5)) также являются важной задачей современной токсикологии и гигиены. Учитывая высокую стойкость ультрадисперсных наночастиц в атмосфере (частицы диаметром от 0,1 мкм до 1 мкм могут оставаться в атмосфере в течение нескольких дней или недель), наблюдаются эффекты их

трансграничного переноса по воздуху на большие расстояния (Health effects of particulate matter policy implications for countries in eastern Europe, Caucasus and central Asia. WHO Europe).

Также значимой особенностью постоянно циркулирующих в атмосфере наночастиц является крайняя вариативность их физических и химических характеристик, которые видоизменяются в зависимости от местоположения. По обобщенным данным мониторинга, химические компоненты обнаруженных в воздухе наночастиц включают в себя сульфаты, нитраты, аммонийные соединения и другие неорганические ионы, такие как натрий, калий, кальций, магний, частицы органического и элементарного углерода, вода, связанная частицами, металлы (включая кадмий, медь, никель, ванадий и цинк) и полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). Кроме того, в их составе присутствуют такие биологические компоненты, как аллергены и микроорганизмы [4; 7; 62; 70; 74].

Принимая во внимания накопленный массив данных о потенциальной опасности наночастиц [111; 117; 124; 128; 133; 146; 200], перед научным сообществом стоит задача изменения и расширения базовых подходов к изучению безопасности процессов, сопровождающих выделение наночастиц. Наноматериалы, обладая рядом особенностей, а именно имея более высокую площадь активной поверхности относительно общего объёма, обладают существенно большим потенциалом к повреждению биологических объектов [26; 29; 32; 33; 58; 118]. Эти данные были получены в основном в ходе исследований, связанных с оценкой биологического влияния наноматериалов при их направленном применении в медицине и биотехнологиях [103; 110; 130; 143]. За прошлые два десятилетия практическое использование наночастиц в экспериментальных и клинических условиях росло по экспоненте из-за их широкого спектра биомедицинских возможностей, например, в доставке лекарственных средств, отображении и прослеживании клетки [158; 189; 217; 238].

Сложившаяся ситуация выдвигает на первый план потребность принимать во внимание и исследовать не только пользу и применимость наночастиц, но также их потенциально непредсказуемые и негативные последствия воздействия на живые

организмы. В этом контексте токсичность наночастиц относится к их способности оказать негативное влияние на нормальную физиологию, а также непосредственно повреждать нормальную структуру органов и тканей людей и животных [26; 28; 33; 35; 64].

Токсичность НЧ зависит от физико-химических параметров, в частности, формы, размера, поверхностного заряда, химического состава и их стабильности. На данный момент не существует точного описания основного механизма цитотоксичности наночастиц, при этом, согласно последним литературным данным, предполагается, что цитотоксичность может быть связана с оксидантным стрессом и провоспалительной активацией генов [17; 24; 28; 37; 115; 195]. В ходе проводимых исследований в клетках, подвергшихся воздействию наночастиц, было выявлено накопление активных форм кислорода с последующим повреждением мембран и массовым апоптозом клеток [92; 114; 187; 211]. В дополнение к связанным с частицей факторам относятся введенная доза, путь введения, свойства тканей, на которые оказывается воздействие, которые также являются важными параметрами в определении наноцитотоксичности [32; 33; 76; 80].

Изучение токсичности, основанное, как правило, на определении эффектов воздействия на клеточные структуры, базируется на увеличении дозы использования наночастиц с целью наблюдения за зависящими от дозы прямыми ответами на клеточном или тканевом уровнях. Такая дозозависимая корреляция является основанием для определения безопасных пределов концентраций частиц для живых организмов. Несмотря на теоретически обоснованную логику такого подхода, исследования на живых организмах, тканевых субстратах и клинические исследования говорили о другом, что выдвинуло на первый план проблему воспроизводимости на практике дозозависимых эффектов: токсичности для органа с предопределенной дозой [25; 26; 33; 56; 65; 134; 277].

Нерешенной остаётся проблема экстраполяции между собой результатов *in vivo* и *in vitro*: во-первых, нужно все же определить, насколько эффективно введённая доза наночастиц достигает целевых тканей; во-вторых, элементом

неопределённости является тот факт, что наночастицы способны вызвать биохимические изменения в естественных условиях, которые, возможно, остались незамеченными в изолированной клетке при проведении исследований на тканевых и клеточных культурах. Отдельной задачей является оценка комбинированного воздействия различных факторов в сочетании с наночастицами, в частности, если рассматривать НЧ как один из факторов производственной среды и трудового процесса [8; 11; 17; 19; 30; 64].

Другой нерешённой проблемой определения нанотоксичности, кроме оценки допустимых уровней доз и концентраций наночастиц в среде, является изучение пути поступления частиц, которые реализуются независимо от дозы и могут влиять на токсичность неблагоприятным способом. Разумно предположить, что биораспределение, накопление, метаболизм и экскреция наночастицы будут отличаться в зависимости от пути поступления, как и её токсичность. Вещества могут поступать в организм через пероральный прием, ингаляционным способом, поступление через кожу и внутрисосудистую инъекцию, впоследствии они могут мигрировать к любой системе органов и тканей [22; 30; 57; 83].

Респираторная доставка лекарственных средств, ассоциированных с наноматериалами, показывает существенный потенциал, но выявленные проблемы относительно местной и системной токсичности в настоящее время являются потенциально лимитирующим фактором, которые могут ограничить применение наноматериалов в фармакологии. В частности, выявленные скопления наночастиц в соединительной ткани и воспалительные реакции были основным механизмом реализации негативных эффектов при данном пути введения [95; 131; 132; 134].

Другой, не менее распространенный путь поступления наночастиц — трансдермальный. Кожа является самым большим органом тела и функционирует как барьер первой линии обороны между внешней средой и внутренними органами человеческого тела. Следовательно, она подвергается множеству неопределённых экологических воздействий из воздуха, а также различному и потенциально токсичному воздействию от косметики, спреев или одежды. Используемые местно наночастицы могут потенциально проникать через кожу, получать доступ к

системному кровообращению и проявить неблагоприятные эффекты в системном масштабе [153; 200].

Внутривенные и оральные пути введения наночастиц, безусловно, имеют более быстрый системный эффект по сравнению с трансдермальным путем введения, при этом, в силу специфики системы кровообращения, большинство веществ подвергаются метаболизму в ходе первого прохода через печень, где они могут накапливаться или перераспределяться через сосудистую сеть к другим органам, включая головной мозг. Несмотря на врожденную защиту мозга гематоэнцефалическим барьером от воздействия внешних химических повреждений, потенциал наночастиц к проникновению через трудные барьеры делает мозг уязвимым для их токсического воздействия. В связи с этим необходимы надежные данные о токсичности наночастиц, чтобы избежать возможных вредных и неблагоприятных эффектов [143; 184; 215; 238].

Также наночастицы имеют обширный потенциал для медицинских целей и в качестве поставщика лекарственных средств для генетического материала, для флуоресцентного маркирования и доставки контрастных веществ в органы и ткани. [252]. Использование наночастиц в качестве поставщиков препаратов, особенно химиотерапевтических, определяется их способностью целенаправленно работать с раковыми клетками, повышать эффективность лечения и снижать системную токсичность. Так, наночастицы золота обладают рядом выгодных свойств, включая нетоксичное и биологически совместимое металлическое ядро, делающее их идеальными субстратами для систем доставки [110; 120]. Кроме того, наночастицы металлов дают возможность использовать различные действующие агенты в одной частице, например, сочетание лекарства и средства таргетирования цели, что превращает их в универсальный инструмент для доставки препарата. Другие нанотранспортные средства по доставке лекарственных препаратов, которые уже находятся на стадии клинического использования, включают в себя липидные частицы, наночастицы, основанные на полимерной структуре, и биологические наночастицы [83; 94; 131].

Еще одним путем поступления наночастиц в организм является нейротропный путь (головной мозг). Мозг, в отличие от печени, имеет очень ограниченную регенерационную способность, поэтому он должен быть особенно защищен от экзогенных повреждений. Это достигается наличием защитного гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), отделяющего цереброспинальную жидкость (ликвор), окружающий мозг от системного кровообращения через плохопроницаемый барьер вокруг капилляров. Однако механизмы обхода ГЭБ могут быть полезными в управлении острыми состояниями, таким как менингит, а также в борьбе с хроническими заболеваниями, такими как деменция или болезнь Паркинсона. Внешнее повреждение ГЭБ потенциально способно активировать мозговые эпителиоциты, таким образом вызывая процессы оксидантного стресса. Кроме того, состояние целостности и биостабильности покрывающих частицы материалов требует всестороннего изучения [110; 137].

Также была показана возможность внедрения наночастиц в окончания чувствительных нервов в пределах легочного эпителия и последующей аксональной транслокации в центральную нервную систему, что с учётом дальнейшего пути выделения ведёт к потенциально вредному воздействию наночастиц. Было показано, что наночастицы способны накапливаться в головном мозге, при этом пути их поступления в том числе предусматривают свободное проникновение по нервным волокнам непосредственно в ЦНС [157; 261]. Исследования показали, что при проникании непосредственно в нервные волокна в носовой полости за три часа частицы достигают обонятельной луковицы, за 12 часов — глубокие отделы мозга. Пиковая концентрация частиц достигается к третьим суткам после экспозиции. Пути перемещения частиц при этом полностью повторяют структуру связей нервных волокон обонятельной системы [97].

В исследованиях сочетанной токсичности для различных видов наночастиц, проводимых в ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора (Сутункова М.П., Кацнельсон Б.А), была зафиксирована способность наночастиц к непосредственному повреждению миелиновой оболочки нервных волокон и накопление их в цитоплазме клеток (Рисунок 1).

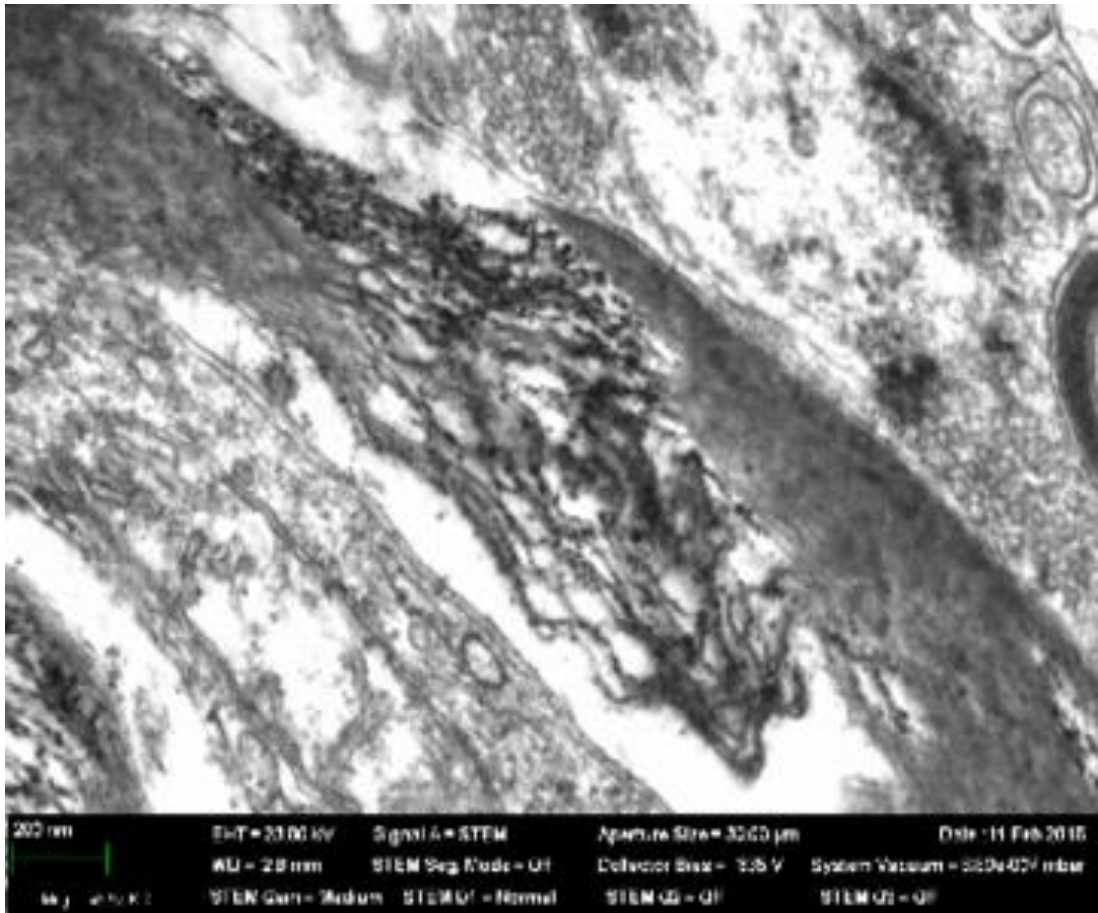


Рисунок 1 — Мозг. Повреждение миелиновой оболочки нервного волокна.
НЧ обнаруживаются в форме мелких электроплотных гранул

Полученные данные говорят о ярко выраженной возможности прямого повреждения нервной ткани наночастицами, причем механизмы альтерации зависят как от химических, так и от физических свойств НЧ [124; 133; 141].

Такое широкое использование различных типов наночастиц в биомедицинской области ставит вопрос о высокой проникающей способности и доступе их к тканям и органам человеческого тела и, следовательно, о возможности развития потенциальных токсичных эффектов. Из-за небольшого размера НЧ и физического подобия существующим в организме биомолекулам, таким как белки, наночастицы обладают возможностью коренным образом изменить используемые в медицине технологии визуализации, диагностики и терапии, а также восполнить отдельные функциональные биологические процессы. Однако эти же особенности могут лежать в основе токсичности наночастиц. Кроме того, зависимость от

способа введения и места депонирования также могут серьёзно повлиять на проявления токсичности частиц.

1.2 Медь и её свойства в живых организмах

Важной задачей как для прикладной, так и для фундаментальной токсикологии является изучение особенностей воздействия наноматериалов на основе химических веществ, которые являются нормальными и необходимыми участниками обменных процессов в организме. В отличие от относительно химически-стабильных наноматериалов на основе таких инертных металлов, как золото и серебро, или специально синтезированных частиц на основе углерода, например, фуллеренов и углеродных трубок, наночастицы металлов не могут рассматриваться только со стороны эффектов, реализуемых исключительно в силу их наноразмерных величин. Необходимо учитывать их общетоксические эффекты, которые могут быть реализованы каким-либо образом в ходе биотрансформации при взаимодействии живого организма с этими частицами [92; 94; 143].

На данный момент для большинства известных химических веществ в их макроформах имеются утверждённые в рамках процедур гигиенического нормирования значения допустимых концентраций для различных сред, подтверждённых натурными и эпидемиологическими данными. Соответственно, встаёт вопрос о наличии или отсутствии необходимости внесения изменений как в сами нормативы, так и в подходы к их определению в силу появившихся новых знаний об особых формах и эффектах воздействия этих химических веществ, но уже в виде наноматериалов [2; 3; 4; 5; 6; 7; 8].

Одним из наиболее используемых в современной промышленности металлов как в чистом виде, так и в виде соединений является медь, при этом она же является ключевым элементом многих ферментов и жизненно необходима для протекания значительного количества биохимических реакций в живом организме. Известно более 20 медьсодержащих ферментов, функционирующих как окислительно-восстановительные катализаторы (например, цитохром-оксидаза, моноамин-

оксидаза) или переносчики кислорода (например, гемоцианин) [22; 131]. Избыточные концентрации меди, с другой стороны, замедляют жизненные процессы организмов, дезактивируя ферменты путем перехода эндоплазматических белков в металлические протоинаты [106; 180].

Медь является элементом I группы периодической системы. Атомный номер — 29. Природные изотопы: ^{63}Cu (69,1 %) и ^{65}Cu (30,9 %). Металл обладает высокой теплопроводностью и электропроводимостью, легко поддается ковке, что объясняет его высокий потенциал промышленного применения в тепло- и электротехнике. В соединениях проявляет 1-ю и 2-ю степени окисления (2-я более распространена). Описаны соединения меди со степенью окисления 3. Металл умеренно химически активен при температуре свыше 185 °С, в присутствии кислорода начинает окисляться, температура перехода в двухвалентный оксид составляет 375-380 °С. Свободно взаимодействует с галогенами и серой. Хорошо реагирует с сильными кислотами, например, серной и азотной кислотами. Соли одновалентной меди практически нерастворимы, соли меди (II) хорошо растворяются в воде. Является хорошим комплексообразователем. В атмосферных условиях медь образует тонкую устойчивую поверхностную пленку, которая препятствует дальнейшему протеканию коррозии. В связи с этим в условиях производства аэрозоли меди чаще всего представлены в форме оксидов. В основном медь получают путем последовательных операций по извлечению и обогащению сульфидных, оксидных медных и полиметаллических руд гидро- или пирометаллургическим методом. Далее осуществляют получение чистой меди в основном электролитическим методом. Медь имеет крайне широкое применение практически во всех сферах экономики, основными ее потребителями являются предприятия электротехники и электроэнергетики, машиностроения, порошковой металлургии, микроэлектроники и химической промышленности [22; 23].

Биологическое значение меди также крайне высоко. Так, один из вариантов построения транспортных систем переноса кислорода, реализованный у беспозвоночных в ходе эволюции, основан на медьсодержащем пигменте гемоцианине, собственно этим фактом объясняется активное накопление меди

моллюсками и другими организмами в мировом океане. Гематокупреин, содержащийся в крови теплокровных, как и в целом системы порфиринового обмена, комплексы цитохромов содержат или активно участвуют в биохимических процессах, основанных на меди. Медь имеет высокое родство с сульфгидрильными группами, которые изобилуют в пределах ферментов АТФ-азы. Наиболее изученные пути токсичности меди включают ингибирование белков, передающих АТФ, и ионных каналов. В дополнение к ингибированию ферментов АТФ-азы и нарушению потока ионов токсичность меди может быть вызвана путем генерации активных форм кислорода (ROS). ROS может привести к различным результатам: генотоксичности через разрыв цепи ДНК и нарушению проницаемости клеточной мембраны через перекисное окисление липидов. Оба пути ставят под угрозу нормальное функционирование клетки [101; 149].

Транспортировка меди в кровотоке осуществляется путем присоединения меди к альбуминам и специфическими белками, такими как транскупреин; основные этапы биотрансформации медь проходит в печени, где входит в состав церулоплазмينا (Siegemund et al.). В крови медь транспортируется связанной с белками и накапливается практически во всех органах. Вместе с тем в норме 98 % циркулирующей меди содержится в составе особого глобулина — церулоплазмينا, синтезируемого главным образом в печёночных клетках и играющего не транспортную, а важную ферментативную роль (оксидазная активность). Церулоплазмин (ферроксидаса I) и ферроксидаса II, также содержащая медь, окисляют Fe(II) в Fe(III) и тем самым делают железо способным к включению в трансферрин, переносящий его к кроветворным клеткам. Основное мобильное депо в виде церулоплазмينا, содержащего до 96 % всей меди, циркулирует в организме. В процессе выведения меди ключевую роль играет печень: с желчью выделяется примерно 80 % меди. Примерно 16 % меди выделяется через кишечник, оставшаяся часть элиминируется почками [22; 26; 78; 106].

Соединения меди обладают широким спектром токсического действия с многообразными клиническими проявлениями. Важную роль в механизме токсического действия меди играют способность ее ионов блокировать SH-группы

белков, в особенности ферментов, и высокая способность повышать проницаемость мембран митохондрий. Избирательной гепатотоксичности способствует локализация меди в лизосомах гепатоцитов [106; 150].

Определённое значение для понимания механизмов экзогенной медной интоксикации имеют генетически обусловленные заболевания, связанные с нарушениями транспорта меди в организме. Болезнь Вильсона (гепатолентикулярная дегенерация) — связанное с мутацией гена АТР7В и наследуемое по аутосомно-рецессивному типу врожденное нарушение метаболизма, основным механизмом которого является недостаточность синтеза церулоплазмينا, поэтому его содержание в крови существенно снижено или отсутствует. В результате имеет место избыточное накопление меди в печени, почках, роговице и головном мозге, а основная патология отражает изменения в базальных ядрах мозга и в печени (цирроз). Высокая токсичность меди для клеток печени обусловлена способностью изменять проницаемость митохондриальных мембран, вызывая нарушения гомеостаза и осмотического баланса; кроме того, отмечается высокая специфичность к накоплению её в лизосомах и транспортных органеллах клеток печени [22; 106].

Интратрахеальное введение 50 мг пыли оксида меди (II) вызывало гибель 50 % крыс; на вскрытии — бронхит, катарально-гнойное воспаление легких, в дальнейшем — диффузный склероз межуточной ткани и избирательное поражение сосудов легких, изменения в печени. Эффекты при хроническом отравлении, исследованные на лабораторных животных при многократной затравке концентрациями в пределах 350 мг/м³ кроликов пылью чистой электролитической меди, объективно характеризуются обильным слюноотделением, общей слабостью, жаждой, отмечается угнетение эритропоэза, повышение концентрации меди во внутренних органах, в первую очередь в печени и крови, идет нарастание содержания белков соединительной ткани в лёгких, в основном коллагена. При вскрытии отмечается значительная инфильтрация лёгочной ткани, как периваскулярная, так и перибронхиальная, бронхит, эмфизема, нарастающая атрофия и признаки некроза клеток печени и почек. Хроническое отравление

аэрозолем (120–150 мг/м³, 3 ч в день, 12 мес.), образующимся при сварке медных изделий (в основном оксидами меди), вызывает гибель части крыс; у выживших — истощение, снижение фагоцитарной активности лейкоцитов и содержания SH-групп в крови; на вскрытии — некроз альвеолярного эпителия, диффузный пневмосклероз. Пероральное введение меди подопытным животным вызывало активное накопление меди органами ткани, поражение печени и почек, перипортальный фиброз, поражение нервной системы.

При исследовании хронического отравления медью у людей большинство исследователей отмечает поражение и появление функциональных изменений со стороны центральной нервной системы, поражение печени и почек разной степени выраженности, слизистых верхних отделов дыхательных путей. Кроме того, отмечается высокая активность меди к симпатической нервной системе и соответствующие ей поражения. Среди работников, профессионально связанных с получением и переработкой медьсодержащих материалов, объективно зафиксированы ангионеврозы, снижение фагоцитарной активности лейкоцитов, титра лизоцима и бактерицидная активность сыворотки крови, аутоиммунные реакции, заболевания желудочно-кишечного тракта; повышение концентрации меди в крови на 30 %, нарастание концентрации церулоплазмينا в крови. Сроки манифестации явных клинических признаков хронического поражения медью в профессиональной среде составляют от 10 до 15 лет стажа [22].

Гигиенические нормативы меди для воздуха рабочей зоны — 1,0/0,5 мг/м³; зарубежные нормативы: медь, пары TWA = 0,2 мг/м³ (в пересчете на медь); медь, пыль и аэрозоль TWA = 1,0 мг/м³ (в пересчете на медь) [1].

Как видно на представленном выше материале, существующие нормативы содержания меди основаны на общетоксических эффектах и фиброгенных эффектах аэрозоля. Особенности воздействия меди в сочетании с другими химическими веществами в условиях промышленного производства и тем более учёт фракционного состава аэрозоля в зависимости от особенностей частиц (размер, форма, заряд и пр.) не учитывались при разработке нормативов.

1.3 Особенности влияния наночастиц меди на организм

За последние годы в литературе появилось немало публикаций, посвящённых экспериментально-токсикологической оценке медьсодержащих НЧ. В экспериментах, проведенных на стабильной клеточной линии лёгочных эпителиальных клеток человека (A549), авторы сравнивали действие синтезированных нанотрубок и НЧ металлов в оксидной форме. Критериями оценки была выработка свободных форм кислорода и их эффекты на молекулу ДНК. Результаты исследования показали существенно большую токсичность НЧ CuO. Авторы полагали, что это не может быть объяснено релизом Cu-иона в клеточную среду [202; 262].

С другой стороны, Vondarenko с соавт. (2012) в ходе исследований влияния сульфата меди и НЧ оксида меди на микроорганизмы пришли к выводу, что основным фактором, определяющим большую токсичность НЧ, является растворимость [267]. Аналогичные результаты, свидетельствующие в пользу приоритетного значения свободного иона меди в растворе как лимитирующего фактора, определяющего биологические эффекты от воздействия наночастиц меди, были получены Pang с соавт. (2013) при оценке влияния CuCl_2 , наночастиц меди (до 100 нм) и микрочастиц (< 500 нм) CuO на донных моллюсков [101].

При изучении токсичности наночастиц на клеточных культурах, в зависимости растворимости и влияния растворимых и нерастворимых частиц при воздействии наночастиц меди (защищенных покрытием на основе углерода) и растворимых наночастиц оксида меди, был зафиксирован более высокий уровень токсичности растворимых частиц относительно нерастворимых при равных дозах введения, также было отмечено, что эффекты от иона Cu^{2+} соответствовали эффектам от воздействия растворимых наночастиц меди [227].

Исследования Cronholm и соавт. (2013) на стабильных клеточных линиях (A549 и BEAS-2B) показали, что наночастицы в отличие от ионов меди захватываются клетками, авторы при этом делают вывод, что обнаруженный цитотоксический эффект и признаки повреждения генетического аппарата клетки

связаны с растворением наночастиц и непосредственным воздействием ионов меди. Также они подтверждают такие выводы отсутствием токсических эффектов при введении наносеребра в аналогичном эксперименте в силу его крайне низкой реактогенности растворимости [202]. При этом в других работах Кацнельсоном Б.А. и соавт. (2013) была показана значимая цитотоксичность и генотоксичность наносеребра *in vivo* [124].

При исследовании влияния субтоксических доз наночастиц оксида и хлорида меди на клетки печени (линия клеток HEP-G2) Cuillet и соавт. (2014) описан механизм проникновения НЧ оксида меди путём эндоцитоза с последующим растворением частиц внутри самой клетки, что и обеспечивает значимые токсические эффекты. При этом автор обращает внимание, что медь в форме наночастиц игнорирует существующие механизмы защиты клетки, направленные на поддержание гомеостаза и нормального уровня меди в клетке.

Существенно более высокие уровни токсического воздействия наночастиц меди по сравнению с микрочастицами были показаны в работах по исследованиям на крысах. Основные токсические эффекты фиксировались в печени и селезёнке. Также были зафиксированы нефротоксические эффекты от воздействия наночастиц меди в сходных экспериментах *in vivo*. Как для многих других металлических частиц, токсические эффекты наноксида меди ряд авторов связывает с индукцией оксидативного стресса [215; 226].

Особенности химии меди и результаты лабораторных исследований указывают на необходимость изучения в первую очередь оксидных форм меди, поскольку медь достаточно реактогенна и быстро окисляется кислородом воздуха. Наночастицы CuO могли вызвать цитотоксичность и повреждение ДНК в человеческой линии эпителиальной клетки легкого A549. Окислительные повреждения были проверены путем измерения внутриклеточного производства реактивных разновидностей кислорода (ROS) с чувствительным к окислению флуоресцентным исследованием 2',7'-дихлорфлуоресцин диацетатов (DCFH-DA). Показано, что окислительное напряжение было основным эффектом, реализующим токсичность наночастиц оксида меди [42]. По сравнению с клетками,

культивированными в нормальной среде, клетки, экспонированные к НЧ CuO, показали уменьшение активности каталаз и деятельности ферментов редуктазы глутатиона (GR) и показали увеличенную активность пероксидазы глутатиона (GPx). Наблюдаемое увеличение отношения окисления ко всему глутатиону позволило предположить, что наночастицы CuO не только генерировали активные формы кислорода, они также заблокировали клеточную антиокислительную защиту. Необходимо отметить, что токсичность наночастицы CuO *in vitro* была больше, чем многих других оксидов металла в форме наночастиц, включая нанотрубки на основе углерода [106; 127; 149].

При оценке ключевых факторов и механизмов токсичности соединений меди в наноформе необходимо учитывать ряд таких специфических характеристик наночастиц, как размер, свойства поверхностей частиц. Так, при сравнении эффектов воздействия двух проб наночастиц с размерами 25 и 100 нм соответственно было показано, что частицы меньшего размера вызвали более активный тромбоцитоз, активацию гранулоцитоза и гемолиз, а также воспалительный эффект в образцах человеческой крови [138; 144]. Размер наночастиц непосредственно коррелирует ко многим существенным свойствам, таким как поверхностные эффекты, растворимость и химическая реактивность, и некоторые из них имеют непосредственное влияние на взаимодействия между наноматериалами и биомолекулами, впоследствии влияющими на проявление токсических эффектов [86; 87]. Например, уменьшение размера приводит к увеличению удельной поверхности наночастицы, способствующей не только накоплению наночастиц, но и увеличению реактивности и улучшению взаимодействия между наночастицей и биомолекулами. Из-за их крошечного размера наночастицы способны пересечь тонкую кишку сорбцией и далее распределить в кровь, мозг, почку и печень [126; 127; 129]. Изменение размера радиуса наночастиц приводит к различным темпам внедрения клетки [134; 135], которые влияют на токсичность. Поскольку они эффективно не фагоцитированы макрофагами, наночастицы крайне плохо выводятся из организма в естественных условиях [142]. Относительно токсичного эффекта на легкие меньшие частицы

могут быть депонированы глубже, нанеся больший ущерб. Показано, что токсичность была связана с измерением с одномерными структурами, показывающими большую токсичность [145; 154].

Другим ключевым фактором токсичности наночастиц является их растворимость. В эксперименте было показано, что наночастицы меди и её оксидов гораздо лучше растворяются чем макроформы меди [101; 106]. Поскольку наноразмерные частицы имеют большие площади поверхности для взаимодействия с растворяющимися молекулами, чем макрочастицы с тем же весом, НЧ показывают более быструю растворимость [126; 127; 128]. Таким образом, наноразмерные частицы более токсичны по сравнению МЧ CuO [106].

Растворимость наночастиц CuO связана с pH и температурой. Растворимость CuO в воде в зависимости от pH имела V-образный профиль при определенной температуре и значения pH от 9 до 11 [149]. В результате токсичность наночастиц меди связана с растворимостью. Наночастицы CuO показывают наименьшие эффекты токсичности при показателях pH между 9 и 11. Изменение pH на 1 единицу по обе стороны предельных значений может вызвать значительное увеличение токсичности. Температурные изменения показывают сходные эффекты.

Известно, что растворённая медь и наночастицы меди способны блокировать Na^+ K^+ АТФ-азы [44]. Ряд исследователей указывали, что токсичность меди в форме наночастиц к тканям желудка и почек была вызвана существенным увеличением со стороны клеток выработкой H^+ ионов и лавинообразным ростом производства HCO_3^- [215].

На данный момент отсутствует единая картина, полностью объясняющая все механизмы реализации токсических эффектов наночастиц меди и её оксидов. В экспериментах реализуемые негативные эффекты объяснялись как результаты оксидантного стресса, вызванного наработкой активных форм кислорода (ROS); прямого повреждения молекул наночастицами меди (например, РНК и ДНК); показаны варианты химического взаимодействия и биотрансформации макромолекул, например, формирование хелатов или замещение металлов в

металлопротеиназах, а также прямого нарушения гомеостаза в клетке в результате накопления избыточного количества ионов меди в клетках [127; 139; 183; 185; 199].

Производство активных форм кислорода под воздействием наночастиц может привести к широкому диапазону биологических ответов, зависящих от объёма производства ROS, типа клеток и состояния антиокислительной системы клетки [94; 109; 138]. Окислительное напряжение, вызванное оксидами металлов в форме наночастиц, было изучено на рыбках-зебрах и клеточных культурах. При внесении суспензий наночастиц концентрация ОН-иона была намного выше, чем при внесении суспензий макрочастиц [147]. ОН-ион обычно рассматривается как один из самых токсичных разновидностей ROS, он в состоянии окислить почти все клеточные компоненты [150]. Внеклеточный ОН-ион, сгенерированный оксидом металла в форме наночастиц, может вызвать окислительные повреждения на клеточных мембранах, которые могут стать причиной реализации токсичных эффектов в организме.

Было доказано, что окислительное напряжение представляет общий механизм для повреждения клетки, вызванное влиянием любых наночастиц, этот механизм был показан в исследованиях токсичности многих наночастиц [164]. После входа в клетку частицы могут вызвать внутриклеточное окислительное напряжение путем нарушения баланса между антиокислительными процессами и окислителем. Чрезмерное окислительное напряжение может также привести к деградации белков, липидов и нуклеиновых кислот, что дальше приводит к активации антиокислительных систем защиты клеток, и в случае её неэффективности ведёт к некрозу клеток. Также в связи с увеличенным производством ROS возможно повреждение ДНК и запуск механизма апоптоза [187; 195].

Ионы меди имеют способность сформировать хелаты. Большое количество биомолекул в организмах содержит активные центры, в основном это кислород и атомы азота, которые могут выступать донорами электронов для формирования хелатов с Cu^{2+} . Так как активные центры молекул в большинстве своём определяют

их функционал, реакции связывания ионов металлов с ними ведут к инактивации биомолекулы [22].

Эффекты связывания могут непосредственно и косвенно способствовать клеточному повреждению ДНК. Наночастицы способны вызвать физическое повреждение генетического материала через прямое взаимодействие с ДНК или связанными с ДНК протеинами, поскольку размеры наночастиц позволяют им беспрепятственно проникать через поры и мембраны ядра клетки или получить доступ к генетическому материалу как во время митоза клетки, так и при интактном состоянии клетки [165; 222; 273].

Несмотря на наличие достаточно разнообразной информации о возможных механизмах негативного воздействия наночастиц меди и её оксидов на живые организмы, нам не удалось обнаружить какой-либо информации о реализации негативных эффектов наночастиц меди на уровне организма в целом или изменения его функциональных возможностей. Вся имеющаяся на данный момент информация указывает либо на поражение на клеточном уровне, никак не проявляемом на уровне организма в целом, либо описывает поражения по типу классического отравления медью в её макроформах.

Практически во всех исследованиях наночастиц отмечается недостаточное количество данных по результатам исследований влияния НЧ меди *in vivo*, и недостаточная изученность механизмов действия этих частиц на организм в целом.

Резюме

Представленные исследования показывают, что ранее описанные особенности воздействия наночастиц на живые организмы, способность непосредственно влиять на генный аппарат клетки, активировать провоспалительные реакции, изменять течение нормальных биохимических процессов, реализовывать негативные эффекты за пределами возможностей клеток к адекватному ответу на такой вид воздействия требуют решения ряда принципиальных вопросов. Во-первых, необходимо понимать, насколько

существенен вклад наночастиц как элемент влияния вредных факторов окружающей среды. Представлены ли наночастицы в составе тех же промышленных аэрозолей в условиях производства, или их доля настолько мала, что реализуемые через их воздействие негативными эффектами можно пренебречь, или же, наоборот, требуется пересмотр подходов к нормированию химических факторов с учетом влияния наночастиц химических соединений. Здесь же возникают следующие проблемы прикладного характера, связанные с обнаружением и разработкой адекватных методов и методик отбора и измерений наночастиц в окружающей среде, достаточно чувствительных и недорогих как с позиции времени, так и затрачиваемых ресурсов для использования в рутинных процессах контроля.

В этих условиях большое значение приобретает анализ существующей нормативной базы для выявления общих закономерностей изменения токсичности веществ при уменьшении их размерности, и обоснование общих подходов к расчету и введению временных (регуляторных) ограничений для наносоединений, если их аналоги микроразмерности имеют утвержденные нормативы.

В среднесрочной перспективе существует необходимость разработки комплекса маркеров, способных охарактеризовать воздействие наночастиц на живые организмы.

Глава 2.

ОБЩАЯ МЕТОДОЛОГИЯ И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Схема организации исследований

С целью изучения эффектов воздействия на здоровье работающих медьсодержащих наночастиц использовалась совокупность гигиенических, токсикологических и эпидемиологических исследований. Было проведено изучение фактических условий труда на рабочих местах, связанных с воздействием медьсодержащих аэрозолей, с качественной и количественной оценкой состава аэрозолей в различных технологических процессах. Проведен эксперимент исследования биологических эффектов наночастиц меди с внутрибрюшинным введением исследуемых частиц белым аутбредным крысам. С целью выявления возможных маркеров воздействия наночастиц меди проведено обследование состояния здоровья работников предприятия, связанных с воздействием медьсодержащих аэрозолей на различных технологических этапах.

В ходе проведения исследования были реализованы следующие этапы:

1. Выбор и гигиеническая характеристика производства, технологических этапов и рабочих мест, связанных с воздействием наночастиц меди:

– характеристика объектов АО «Уралэлектромедь», оценка факторов производственной среды и трудового процесса рабочих мест с определением этапов и участков технологического процесса, на которых возможна экспозиция к наночастицам меди;

– отбор проб воздуха на рабочих местах с помощью аппаратных методов, а также на различные виды фильтров в местах возможной экспозиции работников к наночастицам;

– проведение качественной и количественной оценки состава аэрозоля на основе отобранных проб и визуализация наночастиц с использованием атомно-силовой электронной микроскопии.

2. Оценка возможных биологических (токсических) эффектов воздействия наночастиц меди путем субхронической внутрибрюшинной затравки исследуемых частиц белым аутбредным крысам.

3. Оценка состояния здоровья работников предприятия, связанных с воздействием медьсодержащих аэрозолей на различных технологических этапах с целью определения возможных маркеров воздействия наночастиц меди. Выбор производства, технологических этапов и рабочих мест, связанных с воздействием наночастиц меди.

В качестве объекта для исследований и подтверждения факта наличия или отсутствия наночастиц, их влияния на возможное формирование биологически значимых эффектов для работающего населения был выбран промышленный объект, осуществляющий переработку меди различной степени чистоты, различными технологическим процессами.

В силу разнообразия реализуемых в условиях производства технологических процессов, физико-химические свойства аэрозолей варьируются в широких пределах: это могут быть как аэрозоли дезинтеграции, формируемые в ходе подготовки сырья и транспортировки продуктов и полупродуктов по технологической цепочке, так и широкий спектр аэрозолей конденсации пирометаллургического передела меди, имеющих крайне вариативный состав в зависимости от технологических режимов (обжиг, плавка, литьё), номенклатуры выпускаемой продукции и исходного сырья.

В качестве обоснования выбора технологии, при реализации которой существует вероятность наличия наночастиц меди в составе аэрозолей, мы опирались на исследования по гигиенической характеристике условий труда рабочих в производстве сплавов на основе меди, проводимые ранее силами нашей организации в условиях производства, на ряде металлургических предприятий Урала и Поволжья, в частности Ревдинского завода по обработке цветных металлов, Верх-Нейвинского завода «Вторцветмет», производственного объединения «Южуралцвет метобработка», Гайского завода по обработке цветных металлов. Во всех случаях проводилась оценка химического и дисперсного состава

аэрозоля. В ходе исследования был зафиксирован факт преобладания в составе аэрозолей (более 90 % от общего объёма) респирабельной фракции частиц, имеющей линейные размеры менее 2 мкм.

Также в ходе выборки объектов исследования перед нами стоял вопрос необходимости устранения возможных неопределенностей, связанных с составом используемого сырья, корпоративными особенностями управления системой охраны труда на различных предприятиях.

В связи с этим основными критериями выбора объектов стали следующие:

- предприятие, основным видом деятельности которого является переработка медьсодержащего сырья и меди;
- наличие технологических процессов, в ходе которых возможно образование как наночастиц меди, так и частиц с размерностью более 100 нм.
- единый источник сырья для всех процессов;
- единые подходы к реализации системы охраны труда на предприятиях, средствам коллективной и индивидуальной защиты, мониторингу фактов производственной среды и трудового процесса;
- возможность медицинского обследования работников с получением биологических материалов.

2.1.1 Характеристика объектов предприятия, оценка факторов производственной среды и трудового процесса

АО «Уралэлектромедь» (г. Верхняя Пышма, Свердловская область) в соответствии с техническими инструкциями ТИ 00194429-0100-01-2014 и ТИ 00194429-0100-01-2017 осуществляет плавку черновой меди (пиروметаллургический передел, преобладание аэрозолей конденсации). Операция проводится для целей получения медных анодов, далее прорабатываемых методом электролиза. В данном случае технологический процесс осуществляется в медеплавильном цехе. Источниками основного сырья являются ОАО «Среднеуральский медеплавильный завод» и ОАО «Святогор», поставляющие

медь с большим количеством примесей. Плавка ведётся на стационарных отражательных печах (анодная печь), предназначенных для переработки твердого медного сырья, удаления примесей из расплава меди и получения анодной меди.

Производство медной катанки на АО «Уралэлектромедь» осуществляется методом непрерывного литья (пирометаллургический передел, преобладание аэрозолей конденсации) и прокатки на установке CONTIROD® типа 50C14 производства фирмы MANNESMANN DEMAG SACK (MDS) (Германия). Производство медной катанки (ПМК) расположено на промышленной площадке АО «Уралэлектромедь» и является структурным подразделением АО «Уралэлектромедь». Продукцией подразделения является медная катанка диаметром 8 мм, выпускаемая по ГОСТ Р 53803-2010, предназначенная для получения проволоки круглого или прямоугольного сечений электротехнического назначения. Медь катодная марки М00к, используемая для изготовления катанки, характеризуется практически полным отсутствием примесей.

Производство медных порошков на АО «Уралэлектромедь» реализовано на 2 видах технологических линий из катодной меди марки М00к путём электролиза в сернокислом электролите с осаждением ионов меди в виде дендритного осадка (порошка) на медных стержневых катодах (гидрометаллургический передел) с последующей механической обработкой и фасовкой готового продукта (преобладание аэрозолей дезинтеграции).

2.1.2 Отбор проб воздуха на рабочих местах с помощью аппаратных методов

Используемые в настоящее время методики отбора проб воздуха — МУК 4.1.2468-09 «Измерение массовых концентраций пыли в воздухе рабочей зоны предприятий горнорудной и нерудной промышленности»; МУ 4945-88 Методические указания по определению вредных веществ в сварочном аэрозоле (твёрдая фаза и газы) — не позволяют охарактеризовать долю наночастиц в общей массе аэрозоля, в связи с чем область применения данных методик в части

качественного и количественного определения состава аэрозолей в зависимости от размера частиц ограничена. На данный момент в Российской Федерации отсутствуют утвержденные гигиенические нормативы в зависимости от размера частиц для всех ранее изученных веществ, присутствующих в рабочей зоне в виде аэрозоля. В гигиеническом нормировании сделан акцент на искусственно созданные НЧ, например, однослойные нанотрубки, нормируемые по количеству волокон на кубический метр воздуха, при этом сам подход по установлению нормативов для наноматериалов в зависимости от количества счётных частиц в объёме является крайне дискуссионным из-за склонности наночастиц к агрегации. В связи с чем нами было принято решение об использовании комплекса методов для возможности оценки всего спектра частиц, присутствующих в аэрозоле, с выделением фракции, содержащей наночастицы.

Выбор методов исследований для проведения исследований наночастиц в воздухе рабочей зоны был обусловлен рядом ограничений: во-первых, было необходимо оценить долю наночастиц в общем объёме аэрозоля; во-вторых, оценить их распределение по размерам; в-третьих, определить химический состав этих частиц. Соответственно технология отбора должна была быть направлена на возможности проведения исследований и учитывать особенности поступления НЧ в составе аэрозоля в организм.

Исходя из имеющихся условий, изначально мы были вынуждены отказаться от способов пассивного отбора частиц, поскольку их аэродинамические свойства отличаются от частиц аэрозоля микрометрового диапазона, и выпадение частиц из аэрозоля на поверхности в ходе седиментации и воздействия гравитации будет отличаться неравномерностью: частицы большего размера будут осаждаться на подложку быстрее и в большем количестве, а наночастицы будут представлены в большей степени в виде агрегатов. Кроме того, при исследовании необходимо условно моделировать процесс дыхания человека (скорость и объём поступающего воздуха, высоту от поверхности и т.д.); кроме того, большая часть аттестованных методик пассивного отбора проб разрабатывалась с целью изучения паров и газов, а не аэрозолей. Соответственно основным способом получения образцов

исследуемого аэрозоля стал активный пробоотбор аэрозоля на фильтры и в жидкие среды. Исследование наноматериалов предполагает использование методов, идентичных тем, которые применяются для исследований кристаллических материалов, но поскольку необходимо исследовать поверхности образцов с размерами менее 100 нанометров, перечень доступных методов исследований ограничен.

В качестве основы при проведении пробоотбора и пробоподготовки для проведения исследования мы опирались на положения международных стандартов ИСО 15202-1:2012 «Воздух рабочей зоны. Определение содержания металлов и металлоидов в твердых частицах аэрозоля методом атомной эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой. Часть 1. Отбор проб» (ISO 15202-1:2012 Workplace air - Determination of metals and metalloids in airborne particulate matter by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry - Part 1: Sampling); ИСО 15202-2:2012 «Воздух рабочей зоны. Определение содержания металлов и металлоидов в твердых частицах аэрозоля методом атомной эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой. Часть 2. Подготовка проб» (ISO 15202-2:2012 Workplace air - Determination of metals and metalloids in airborne particulate matter by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry - Part 2: Sample preparation, IDT). Стандарты предполагают возможность индивидуального отбора проб вдыхаемой или респираторной фракции твердых частиц аэрозоля в соответствии с ИСО 7708 и для стационарного отбора проб. Методика предполагает захват твердых частиц аэрозоля, содержащих металлы и металлоиды, которые улавливают путем прокачки известного объема воздуха через фильтр, установленный в пробоотборнике, предназначенном для улавливания соответствующей фракции твердых частиц аэрозоля. Далее фильтр с пробой обрабатывают для перевода определяемых металлов и металлоидов в раствор в соответствии с одной из методик подготовки проб, установленных в ИСО 15202-2. Также мы опирались на приложение В представленных стандартов «Руководство по выбору фильтра» и общие требования к фильтрам: фильтры должны быть подходящего диаметра для использования в пробоотборниках, иметь

эффективность улавливания не менее 99,5 % для частиц с диффузионным диаметром 0,3 мкм (см. 2.2, ИСО 7708), характеризоваться очень низким содержанием металлов (обычно менее 0,1 мкг каждого определяемого металла или металлоида на фильтр) и быть совместимыми с выбранным методом подготовки проб.

Учитывая, что цели и необходимый объем предполагаемых исследований превышал возможности данного стандарта, для полного решения поставленных задач оценки экспозиции к наночастицам меди на рабочих местах применялись следующие методы:

1) гравиметрический метод определения общей массы аэрозоля (диапазон измерений массовых концентраций пыли от 1,0 до 250,0 мг/м³);

2) метод лазерной нефелометрии определения массовой концентрации пыли в стандартах РМ (Particulate Matter — взвешенные частицы) — классификация частиц пыли от их размера: РМ₁ — размер частиц от 1 мкм и менее (в диапазон размеров РМ₁ входят в том числе ультратонкие частицы до 0,1 мкм); РМ_{2,5} — размер частиц от 2,5 мкм и менее; РМ_{Resp.} (РМ₄) — размер частиц от 4 мкм (респирабельная фракция пыли) и менее; РМ₁₀ — размер частиц от 10 мкм и менее (диапазон измерений массовой концентрации аэрозольных частиц от 0,01 до 150 мг/м³);

3) метод сканирования мобильности частиц (SMPS-спектрометрия) (диапазон измеряемых размеров 10–420 нм, числовая концентрация частиц 1×10^2 – 1×10^6 частиц/см³);

4) сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) и электронно-зондовый микроанализ использовались для исследования элементного состава, а также размеров и формы наночастиц в пробах.

Массовую концентрацию «общей пыли» в воздухе рабочей зоны определяют гравиметрическим методом. Принцип метода основан на увеличении массы гравиметрического фильтра, абсорбирующего взвешенные частицы из пропущенного через него фиксированного объема воздуха, по сравнению с первоначальной массой фильтра.

Отбор проб воздуха для определения массовой концентрации пыли в воздухе проводился согласно МУК 4.1.2468-09 «Измерение массовых концентраций пыли в воздухе рабочей зоны предприятий горнорудной и нерудной промышленности», ГОСТ 12.1.005-88 «Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны» и Р.2.2.2006-05 «Гигиена труда. Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса. Критерии и классификация условий труда» с использованием фильтров АФА-ВП-20 (изготавливаются по ТУ 95 1892-89); в качестве фильтродержателей использовались аллонжи ИРА-20-1 пластмассовые открытого типа с рабочей площадью фильтра 20 см² (изготавливаются по ТУ 95 1021-82), усиленные сеткой опорной СО-20. В качестве устройства для отбора проб использовался переносной аспиратор ПА-300М-2 (изготавливается в соответствии с ГОСТ Р 51945-2002 «Аспираторы. Общие технические условия» и ТУ 4215-008-39906142-2010 «Приборы для отбора проб воздуха ПА-20М, ПА-40М, ПА-300М. Технические условия»; изготовитель ООО «ЭКОТЕХ-Урал»; прибор внесен в государственный реестр средств измерений за номером 21783-11).

Отбор проб проводился на рабочих местах в медеплавильном цехе, цехе медных порошков, цехе медной катанки. На каждом рабочем месте было отобрано 3000 дм³ воздуха при скорости отбора 100 дм³/мин.

По окончании отбора фильтродержатели поворачивались в вертикальное положение фильтром вверх, затем извлекались, каждый складывался вчетверо (запыленной стороной внутрь) и укладывался в пакет из кальки.

При проведении исследований (измерений) в воздухе рабочей зоны определялись следующие метеорологические параметры: температура окружающего воздуха, атмосферное давление, относительная влажность воздуха.

Для измерений использовались следующие приборы:

– измеритель влажности и температуры ИВТМ-7К (изготавливается в соответствии с ТУ 4311-001-70203816-17; изготовитель ЗАО «Экологические сенсоры и системы (ЭКСИС)»; прибор внесен в государственный реестр средств измерений за номером 71394-18);

– измеритель комбинированный Testo-405-VI (изготавливается в соответствии с технической документацией фирмы-изготовителя; изготовитель Testo AG, Германия; внесен в государственный реестр средств измерений за номером 17273-11).

Метеорологические параметры фиксируют в сопроводительном документе к отобраным пробам воздуха (измерениям).

Массовые концентрации пыли в воздухе рабочей зоны в стандартах РМ — РМ1, РМ2.5, РМ_{Resp.}, РМ10 и «общая пыль» определялись методом лазерной нефелометрии с помощью анализатора аэрозолей DustTrak (изготавливается в соответствии с технической документацией фирмы-изготовителя; изготовитель TSI Incorporated, США; прибор внесен в государственный реестр средств измерений за номером 55060-13) (Рисунок 2 А, Б).

Принцип метода основан на регистрации рассеянного излучения. Луч He-Ne лазера просвечивает ячейку, через которую прокачивается анализируемая воздушная проба. Находящиеся в траектории луча аэрозольные частицы рассеивают свет. Прямое излучение попадает в световую ловушку, представляющую собой абсолютно черное тело, в которой полностью поглощается. Фотоприемник регистрирует излучение, интегральное значение интенсивности которого пропорционально концентрации аэрозольных частиц (Рисунок 2 А, Б).

Замеры производились в рабочих зонах на тех же участках, где был выполнен отбор на фильтры. Также фиксировались метеорологические параметры.



Рисунок 2А — Внешний вид анализатора аэрозолей DustTrak модели 8533 (производство TSI Incorporated, США)

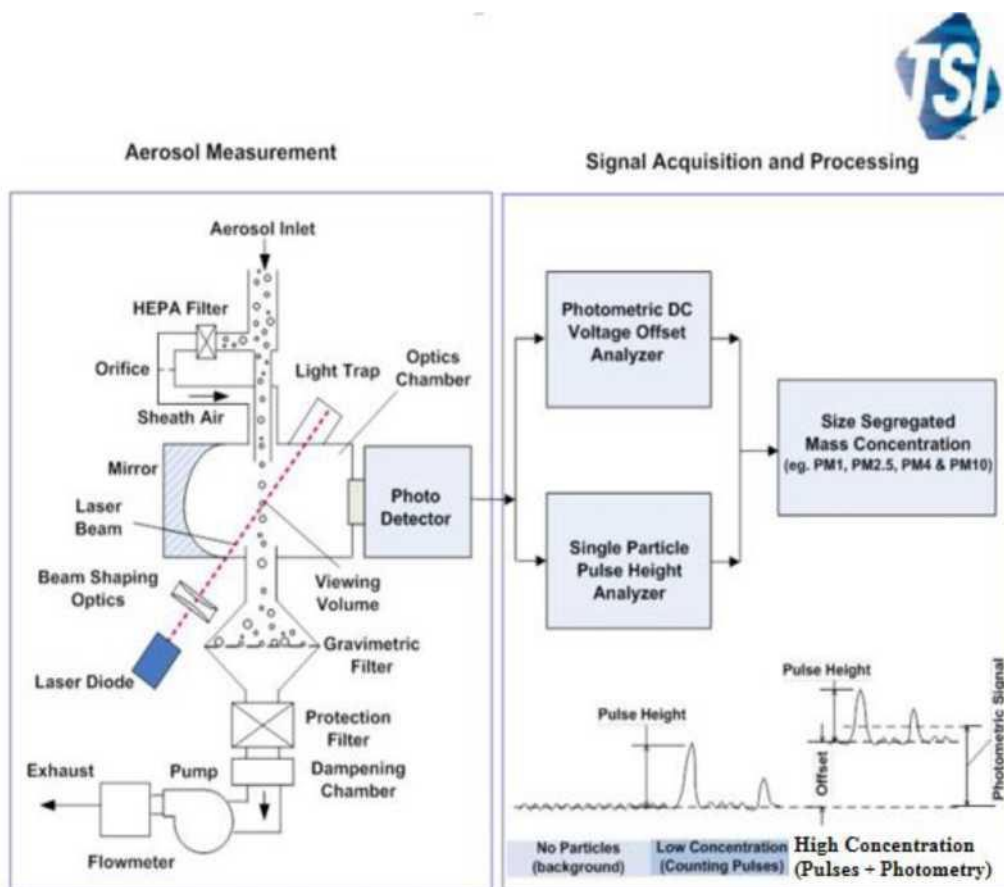


Рисунок 2Б — Блок-схема прибора (DustTrak модели 8533).

Метод сканирования мобильности частиц (SMPS-спектрометрия)

Определение гранулометрического состава аэрозолей в воздухе по их физическим параметрам проводилось с использованием сканирующего классификатора мобильности наночастиц NanoScan SMPS модели 3910

(изготавливается в соответствии с технической документацией фирмы-изготовителя; изготовитель TSI Incorporated, США) (Рисунок 3 А, Б).

Определение основано на фракционном отделении ультратонких частиц, поступающих в классификатор из полидисперсного аэрозоля под воздействием циклона, установлении равновесия зарядов с использованием однополюсного зарядного устройства, их разделении по электрической подвижности в дифференциальном анализаторе при условии, что размер частиц прямо пропорционален количеству единичных зарядов на частицах и определении счетной концентрации этих частиц в конденсационном счетчике частиц (Рисунок 3 А, Б).

Замеры производились в рабочих зонах на тех же участках, где отбор на фильтры, а также в различных участках цеха, на улице и в «чистых» помещениях. Также фиксировались метеорологические параметры.



Рисунок 3А — Внешний вид сканирующего классификатора мобильности наночастиц NanoScan SMPS модели 3910 (производство TSI Incorporated, США)

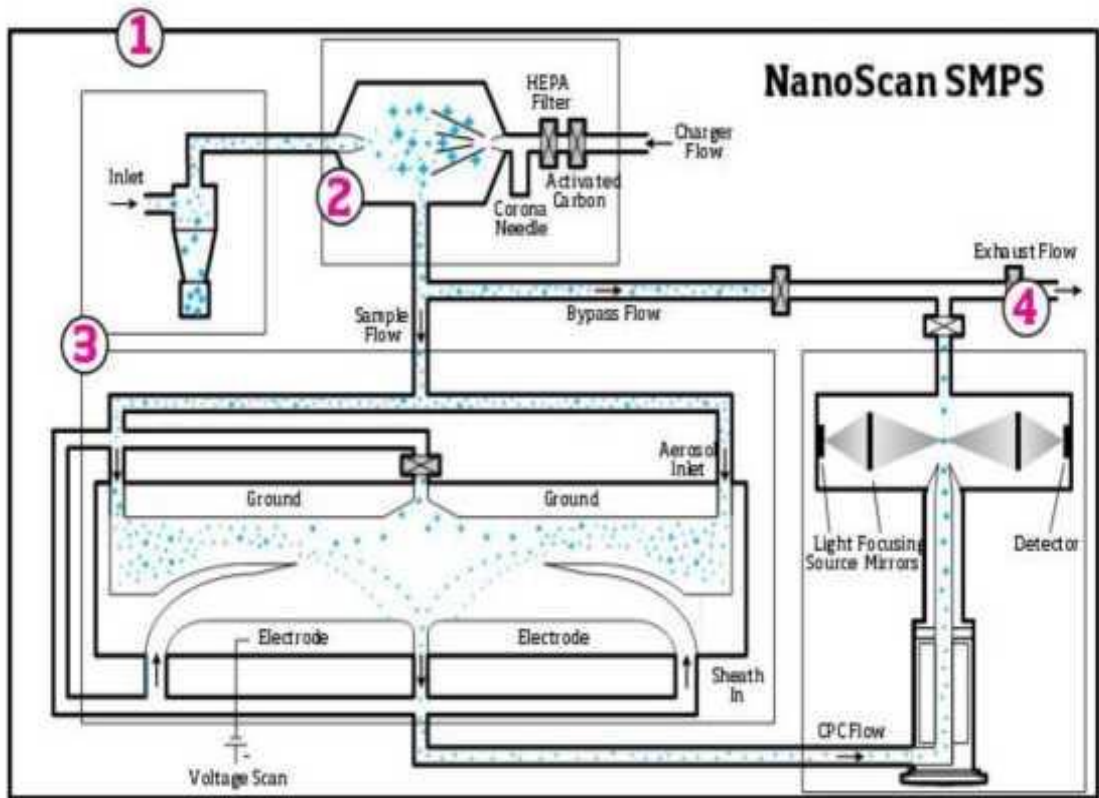


Рисунок 3Б — Блок-схема классификатора наночастиц модели 3910: cyclone — циклон, hear filter — высокоэффективный сухой воздушный фильтр, activated carbon — активированный уголь, corona needle — коронирующая игла, sample flow — поток пробы, bypass flow — байпасный поток, exhaust flow — отходящий поток, patented radial DMA — запатентованный радиальный дифференциальный анализатор, ground — земля, aerosol intel — вход аэрозолей, electrode — электрод, sheath in — обшивка, cps flow — поток в счетчик конденсационных частиц, light source — источник оптического излучения, detector — детектор, focusing mirrors — фокусирующие зеркала

После установки фильтров кассеты герметично закрывались и дополнительно уплотнялись пленкой с целью исключения попадания воздуха из вне.

В качестве устройства для отбора проб использовался переносной аспиратор ПА-300М-2 (изготавливается в соответствии с ГОСТ Р 51945-2002 «Аспираторы. Общие технические условия» и ТУ 4215-008-39906142-2010 «Приборы для отбора проб воздуха ПА-20М, ПА-40М, ПА-300М. Технические условия»; изготовитель

ООО «ЭКОТЕХ-Урал»; прибор внесен государственный реестр средств измерений за номером 21783-11).

Отбор проб производился в рабочих зонах на тех же участках, где отбор на фильтры для гравиметрии. На каждом рабочем месте было отобрано 40 дм³ воздуха при скорости отбора 1 дм³/мин. Также фиксировались метеорологические параметры.

По завершению отбора проб воздуха кассеты приводились в вертикальное положение фильтром вверх. Транспортировка кассет к месту проведения анализов осуществлялась в жестко закрепленном вертикальном состоянии для снижения возможных частиц с поверхности фильтров.

2.1.3 Качественная и количественная оценка состава аэрозоля.

Визуализация наночастиц

Для качественного и количественного анализа состава аэрозоля применялся метод сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).

Условиями выбора подложки для целей СЭМ являлся захват частиц аэрозоля и их удержание на поверхности с возможностью определения количества отдельных частиц на поверхности фильтра.

В качестве возможных технических проблем рассматривалась возможность эффекта фильтрации, когда частицы меньшего размера, чем отверстия фильтра, не будут захвачены и потеряны для целей анализа. Для этого были построены системы из последовательно расположенных фильтров с установкой в конце поглотителей с жидкой средой или волокнистых фильтров большой толщины для гарантированного захвата частиц, проскок которых был теоретически возможен. Другой проблемой рассматривалось высокое механическое сопротивление фильтров, что при протягивании через них воздуха на определённых скоростях могло бы привести или к механическому разрушению фильтра, или нарушению герметичности системы.

Рассмотрены следующие варианты фильтров:

– фильтры АФА на основе полотна Петрянова — волокнистая структура и хорошее удержание электростатического заряда позволяет обеспечить эффективный захват частиц;

– мембраны из полиэфирсульфона (ПЭС) характеризуются высокой пористостью, механической прочностью и химической инертностью, отверстия имеют неправильную форму; обладают высокой скоростью фильтрации с низким связыванием белка; ПЭС-мембраны являются хорошим выбором для фильтрации биологических и фармацевтических образцов (в силу крайней неоднородности пор, что могло негативно сказаться на эффективности захвата частиц, нами в исследовании не применялись);

– мембраны из нитроцеллюлозы также характеризуются высокой пористостью, более равномерной структурой и размером пор по сравнению с мембранами ПЭС, но меньшей механической прочностью; они более распространены, дешевле ПЭС-мембран и имеют большее количество вариантов калибровки по размерам пор, активно применяются для контроля за клеточными культурами;

– мембраны из поликарбоната имеют одинаковые гладкие, круглые, хаотично расположенные поры, которые, проходя сквозь мембрану, создают точную капиллярную структуру; ровная гладкая поверхность улучшает видимость захваченных частиц;

– неорганические мембраны на основе глинозема имеют правильную форму отдельных ячеек, большое количество пор, характеризуются низкой аффинностью к химическим веществам; фильтры практически полностью прозрачны; они более хрупкие по сравнению с поликарбонатными, и являются наиболее дорогим вариантом из представленных образцов.

Исследование образцов фильтров проводилось с СЭМ Carl Zeiss, микроанализ — R-детектором X-Max.

Рентгеновский дифрактометр D8 ADVANCE, Bruker, Германия. Метод рентгеновского дифракционного анализа применяется для определения химического состава частиц, осажденных на фильтры.

Атомно-эмиссионный спектрометр с индуктивно-связанной плазмой iCAP-6500 Duo, Thermo Scientific, США. Метод атомно-эмиссионной спектроскопии применяется для определения концентрации отдельных химических элементов в пробе.

Анализ визуальных данных проводится программой SmartSEM, предназначенной для управления системой Auriga, используется для получения электронно-микроскопических изображений наночастиц в клетках.

Программа SIAMS Photolab используется для анализа электронно-микроскопических изображений поверхности клеток с целью выделения на изображениях областей, соответствующих выраженным углублениям на поверхности. Для проведения такого анализа создано специальное алгоритмическое решение.

Визуализация наночастиц на поверхности фильтров в режиме СЭМ проводилась при амплитуде ускоряющего напряжения в диапазоне $1 \div 15$ кВ. Использование ускоряющего напряжения в этом диапазоне позволяет получить максимальное соотношение сигнал / шум и уменьшить повреждение образца электронным пучком. Установка тока электронного зонда и апертуры объектива производилось в соответствии с выбранным увеличением.

Визуализация производилась с разрешением не менее 1024×768 точек. Наибольший размер изображения позволил получать полное изображение наночастиц и их агрегатов на поверхности фильтров.

Для проведения измерения методом электронно-зондового микроанализа подбиралось оптимальное значение тока электронного зонда. Значение тока зонда определяется состоянием образца. Сбор рентгеновского спектра проводился со скоростью в диапазоне $800 \div 1000$ импульсов в секунду. Время сбора рентгеновского спектра составляло 30–120 секунд.

Для проведения исследований с помощью электронной микроскопии и рентгеновского микроанализа образцы закреплялись на специальный держатель с помощью токопроводящего скотча.

Проводилась дегазация фильтров в вакуумной камере (10-3мбар) в течение 1–10 часов.

Для удаления избыточного заряда с поверхности фильтров, который накапливается при проведении измерений методами СЭМ и микроанализа, на поверхность образцов напылялось токопроводящее покрытие толщиной 5–20 нм. Для измерений методами СЭМ использовалось токопроводящее покрытие из углерода или Au/Pd (70/30).

Измерения проводились на поверенном и калиброванном оборудовании согласно свидетельству об аттестации методики (метода) измерений № 251.0066/01.00258/2012 «Методика измерений линейных размеров и массовой доли элементов методом растровой электронной микроскопии». Данная методика обеспечивает измерение линейных размеров индивидуальных нанобъектов при анализе наночастиц (нанопорошков) в диапазоне измерений и с относительными погрешностями измерений при доверительной вероятности $P = 0,95$ (Таблица 1, 2).

Таблица 1 — Диапазон измерений и показатели точности результатов измерений линейных размеров нанобъектов

Диапазон измерений размеров нанобъектов, нм	Показатель повторяемости, σ_r , %	Показатель внутрилабораторной прецизионности, σ_R , %	Показатель точности, $\pm\delta$, %
от 10 до 50	6	7	15
Свыше 50 до 1000	3	4	9

Примечание: σ_r — относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости, σ_R — относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности, $\pm\delta$ — границы, в которых находится относительная погрешность измерения с вероятностью $P = 0,95$.

Таблица 2 — Диапазон измерений и показатели точности результатов измерений массовых долей элементов от В до U

Диапазон измерений массовых долей элементов, %	Показатель повторяемости, σ_r , %	Показатель внутрилабораторной прецизионности, σ_R , %	Показатель точности, $\pm\delta$, %
от 5 до 50 вкл.	0,9	1,1	5
свыше 50 до 80 вкл.	0,7	0,8	3
свыше 80 до 100 вкл.	0,5	0,6	1

Примечание: σ_r — относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости, σ_R — относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности, $\pm\delta$ — границы, в которых находится относительная погрешность измерения с вероятностью $P = 0,95$.

В ходе подготовки работ по идентификации, определению состава и дисперсности промышленных аэрозолей меди был проведён эксперимент по отработке отбора наночастиц аэрозоля дезинтеграции и конденсации с использованием мембранных нитроцеллюлозных фильтров Millipore с разной пористостью при последовательном соединении и поглотителей с деионизированной водой или стабилизированной эмульсией с ПАВ ОП-10 с установкой в качестве уловителя частиц в случае возможного проскока наночастиц волокнистых фильтров АФА-ВП-10 для определения возможности использования волокнистых фильтров для указанной задачи. Отбор проводился со скоростью 0,5–1 л/мин. в течение 10–20 минут (Таблица 3).

В результате проведенного экспериментального исследования, учитывая полный захват как волокнистыми, так и нитроцеллюлозными мембранными фильтрами всех частиц аэрозоля (и отсутствие обнаружения меди в поглотителях после них), в качестве апробации основного метода сбора аэрозоля в условиях производства для идентификации состав аэрозоля была подтверждена возможность использования как волокнистых (АФА-ВП-10) фильтров, так и нитроцеллюлозных мембранных фильтров для целей полного захвата всей массы аэрозоля.

Таблица 3 — Лабораторный модельный эксперимент отработки отбора наночастиц

Номер эксперимента	Номер фильтра	Диаметр пор фильтра, нм	Номер поглотителя	Характеристика поглотительного раствора
1	30	АФА-ВП-10		
	1	Millipore 100	1	Деионизированная вода
	2	Millipore 45		
	5	Millipore 25		
2	31	АФА-ВП-10		
	4	Millipore 100	2	Деионизированная вода + СПАВ (ОП-10)
	3	Millipore 45		
	33	АФА-ВП-10		
3	-	-	3	Деионизированная вода
	34	АФА-ВП-10		
	-	-	4	Деионизированная вода + СПАВ (ОП-10)
	35	АФА-ВП-10		
4	-	-	5	Деионизированная вода
	36	АФА-ВП-10		
	-	-	6	Деионизированная вода + СПАВ (ОП-10)
5	-	-	7	Деионизированная вода
	-	-	8	Деионизированная вода + СПАВ (ОП-10)

Для целей качественного анализа состава аэрозолей использовались мембраны различной пористости. Отбор проб воздуха проводился параллельно с отбором проб для гравиметрического анализа на мембранные фильтры из поликарбонатной пленки Nuclepore (изготовитель WHATMAN, Германия) с размером пор 100 нм и 50 нм (диаметр фильтра 25 мм) и на мембранные фильтры из оксида алюминия высокой чистоты Anopore (изготовитель WHATMAN, Германия) с размером пор 100 нм и 20 нм (диаметр фильтра 25 мм). В качестве

фильтродержателей использовались сборные полипропиленовые кассеты (изготовитель SKC Inc, США). Всего исследована 41 проба.

2.2 Оценка возможных биологических (токсических) эффектов воздействия наночастиц меди путем субхронической внутрибрюшинной затравки исследуемых частиц белым аутбредным крысам

В рамках исследования возможных токсических эффектов наночастиц меди проводился эксперимент по внутрибрюшинному введению исследуемых частиц белым аутбредным крысам.

Для введения в эксперименте использовались микрочастицы (МЧ) меди сферической формы со средним диаметром 320–340 нм и наночастицы (НЧ) меди нанометрового диапазона диаметром 18–20 нм, полученные либо лазерной фрагментацией нанопорошка меди фирмы Alfa Aesar (30 нм) в виде водной суспензии, либо методом лазерной абляции медной мишени в водной среде. Получение НЧ методом лазерной абляции в водной фазе осуществлялось с использованием лазерной системы Fmark-20 RL со встроенной системой сканирования (производство ООО «Центр лазерных технологий», Россия). Источник излучения — иттербиевый волоконный лазер.

Основные параметры лазера:

- длина волны — 1 мкм;
- частота модуляции — 21 кГц;
- максимальная средняя мощность — 20 Вт;
- диаметр пятна лазерного луча на поверхности мишени — 40 мкм;
- максимальная плотность энергии — 80 Дж/см²;
- фокусное расстояние линзы — 230 мм.

Исходным объектом для изготовления мишени являлась медная пластина с чистотой металла 99,99 %. Толщина мишени — 1 мм, толщина слоя деионизированной воды — 2 мм. Линейная скорость облучения мишени составляла 270 мм/с. Дальнейшая дисперсия полученного коллоидного раствора после

удаления мишени проводилась лазерным лучом в режиме сканирования при плотности энергетического потока от 20 до 80 Дж/см². Доведение концентрации раствора НЧ до 0,5 г/л осуществлялось путем выпаривания при температуре 50–55 °С в течение 5 часов.

Получение МЧ меди осуществлялось методом электрической дезинтеграции (взрыва) высокочистой медной проволоки. При данном методе получался медный порошок со спектром частиц от 200 нм до 50 мкм. С целью дальнейшей сепарации и выделением необходимой фракции частиц меди использовалось ультразвуковое диспергирование в водном растворе. За счёт гравиметрических эффектов достигалось осаждение крупной фракции и сохранение части необходимого размера в растворе. В дальнейшем раствор высушивался, полученный порошок разводился деионизированной водой для получения растворов необходимой концентрации.

Подтверждение линейных размеров полученных частиц осуществлялось методами силовой электронной микроскопии (URIGA CrossBeam Workstation, Carl Zeiss, Германия). Использованные режимы работы: пространственное разрешение 1,5 нм при 15 кВ; диапазон ускоряющих напряжений 0,1–30 кВ. Пробоподготовка предусматривала лиофильное осушение пробы при помощи системы Christ Alpha 2–4 LSC, Германия, до полного извлечения воды из образца.

Измерение величины дзета-потенциала (ζ) с целью оценки стабильности полученного коллоидного раствора осуществлялось методом динамического рассеяния света (ДРС) с использованием анализатора Zetasizer Nano ZS (производство PLC Malvern Instruments, UK).

С целью подтверждения химического состава частиц использовались энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия (EDX) и регистрация спектров комбинационного рассеяния (КРС, Raman spectroscopy).

Рентгеновская спектроскопия реализована на детекторе X-Max при проведении СЭМ. Использовался режим работы с ускоряющим напряжением в 5кВ. Полученные данные стандартизировались к площади образца 100*100 мкм. Регистрация спектров комбинационного рассеяния света проводилась с помощью

системы Alpha 300 AR+ (WiTec GmbH) при возбуждении излучением твердотельного лазера с длиной волны 488 нм. В качестве подложки использовалась кремневая пластина, исследуемая проба подвергалась предварительной сушке.

Анализ полученных спектров КРС позволил определить состав окислов меди в поверхностном слое микро- и наночастиц. По результатам удалось подтвердить, что частицы исходного нанопорошка до фрагментации покрыты слоем CuO, а поверхность микро- и наночастиц, полученных лазерной абляцией, покрыта слоем Cu₂O.

Оценка свойств полученных наноматериалов меди представлена в таблице 4.

Таблица 4 — Оценка свойств полученных наноматериалов меди

Исследованные материалы	Cu, атомные %	O, атомные %
Порошок CuO (эталон)	51±3	49±3
Нанопорошок меди Alfa Aesar	73±5	27±5
Микropорошок меди	70±5	30±5
Лазерная абляция	53±5	47±5
Фрагментация нанопорошка	45±5	55±5

Представленные в таблице 4 данные показали следующее:

- измерения эталонного порошка CuO подтвердили точность метода;
- исходный нанопорошок меди состоит из 27 % CuO и 46 % Cu, что соответствует толщине поверхностного слоя окисла около 6 нм;
- структура микрочастиц меди представляет собой металлическое ядро, покрытое оксидной пленкой толщиной примерно 80–90 нм.

В эксперименте по оценке эффектов наночастиц меди использовались белые крысы (аутобредные самки массой тела ≈ 200 гр.) по 12 особей в исследуемых и контрольной группах. Содержание животных было реализовано в виварии, соответствующего действующим нормативным требованиям. Для питания

использовался специализированный комбикорм ООО «Лабораторкорм», (сертификат соответствия № РОСС RU. ПР98. В01220 до 08.02.2010 г.). Для питья применялась питьевая очищенная артезианская вода первой категории «Ключи» (сертификат соответствия № РОСС RU. АЯ 55.В17460).

Общие условия содержания, ухода и вывода из эксперимента были реализованы в соответствии с нормами и требованиями International guiding principles for biomedical research involving animals (the Council for International Organizations of Medical Sciences) и Приказа Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 755 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных».

Непосредственно экспериментальное исследование проводилось путем субхронической внутрибрюшинной затравки. Исследуемые наночастицы и субмикронные частицы меди в виде водной суспензии с контролируемой концентрацией в 0,5 мг/мл из расчёта 10 мг/кг массы тела трехкратно в течение недели (всего 19 введений) вводили подопытным крысам внутрибрюшинно. В контрольной группе для введения использовали тот же объем деионизированной воды.

В эксперименте было использовано 3 группы животных по 12 особей в каждой, все животные получили групповую и индивидуальную маркировку в виде метки и соответствующий номер для оценки результатов.

Группы были разделены по следующим позициям:

1. Крысам вводили суспензии наночастиц меди.
2. Крысам вводили суспензии микрочастиц меди.
3. Крысам вводили деионизированную воду.

Оценка эффектов воздействия вводимых препаратов предполагает комплексную оценку состояния организма в целом и его отдельных органов и систем. В качестве стандартных критериев оценки учитывались динамика массы тела, поведенческие реакции подопытных животных («норковый рефлекс» и суммационно-пороговый показатель).

Оценка параметров крови животных (капиллярная кровь из кончика хвоста) предполагала изучение содержания в крови эритроцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, ретикулоцитов, гемоглобина и активности сукцинатдегидрогеназы лимфоцитов.

Собираемая моча исследовалась по следующим параметрам: объем суточного диуреза, концентрация, суточное выведение эндогенного креатинина, копропорфирина и дельта-аминолевулиновой кислоты (ДАЛК).

После забоя животных исследовалась масса внутренних органов (селезенка, печень, почки). Собранная кровь исследовалась на содержание белка и его фракций, церулоплазмينا, малонового диальдегида, щелочной фосфатазы, активность аланина и аспартат-трансаминазы, гамма-глутаминтрансферазы, билирубина, креатинина.

2.3 Оценка состояния здоровья работников предприятия

С целью изучения возможных потенциальных эффектов воздействия наночастиц меди на лиц, профессионально контактирующих с аэрозолями металлов, было проведено исследование состояния здоровья среди работников АО «Уралэлектромедь». В качестве основы исследований был использован стандарт периодического медицинского осмотра на уровне Центра профессиональной патологии в соответствии с приказом Минздравсоцразвития России от 12.04.2011 г. № 302н «Об утверждении перечней вредных и (или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования), и Порядка проведения обязательных предварительных и периодических медицинских осмотров (обследований) работников, занятых на тяжелых работах и на работах с вредными и (или) опасными условиями труда», с дополнительным отбором крови и мочи для исследования и проведения функциональных исследований (Таблица 5).

Таблица 5 — Перечень проводимых исследований

Лабораторные и функциональные методы исследования	Обоснование использования
ОАК	Входит в ПМО (приказ № 302н).
ОАМ	
ЭКГ	
Рентгенография легких	
Бодиплатизмография с определением диффузионной способности легких	Вследствие преимущественно ингаляционного пути поступления в организм наночастицы меди за счет малого размера достигают альвеол, где могут вызвать необратимое повреждение легких в виде интерстициального воспаления (альвеолита) с дальнейшим возможным развитием гиперчувствительного пневмонита. Диффузионная способность (DLCO) — это показатель адекватного функционирования аэрогематического барьера и морфологической активности альвеолита.
Пульсоксиметрия	Входит в ПМО (приказ № 302н).
Интерлейкины 1в, 2, 8, Интерлейкин 4 ФНО (TNF-α)	Показатели активности воспаления (функциональной активности Т-лимфоцитов, стимуляции и регуляции иммунных процессов, стимуляции синтеза белков острой фазы, проницаемости сосудистой стенки). Противовоспалительный фактор (подавляет активность макрофагов и биосинтез цитокинов). Многофункциональный провоспалительный цитокин (стимулирует продукцию интерлейкинов, влияет на липидный метаболизм, коагуляцию, функционирование эндотелия).
Специфическая аллергодиагностика	Входит в ПМО (приказ № 302н).
Эластография печени и почек	Более тонкий и ранний метод выявления повреждения структуры паренхиматозной ткани, выполняется на аппарате УЗИ.

Исследование микроальбуминурии (МАУ)	Показатель повреждения почек.
Креатинин с последующим расчетом скорости клубочковой фильтрации по формуле	
Определение КИМ-1 (молекула повреждения почек 1) в крови и моче	Маркер почечного повреждения.
АСТ	Входит в ПМО (приказ № 302н).
АЛТ	
Определение уровня меди в крови	Оценка степени накопления меди
Определение меди в моче	
Церулоплазмин крови	
Общий белок и фракции	Биохимические показатели повреждения печени.
Гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП)	
Щелочная фосфатаза	
Билирубин и фракции	
ЛДГ	
НВS-антиген	
аНСV	Для дифференциальной диагностики патологии печени, особенно при высоких значениях печеных ферментов.
А-Глутатион S-трансфераза	Маркер повреждения печени и проксимальных канальцев почек.
S-100	Специфический белок повреждения нервной ткани.
Нейронспецифическая енолаза (NSE)	Фермент ЦНС, потенциально характеризующий повреждение нейронов и повреждение ГЭБ.

Перечень специалистов, участвующих в осмотре:	
Терапевт	Входит в ПМО (приказ № 302н). Общетерапевтический статус, выявление клинических признаков поражения печени, почек.
Невролог	Входит в ПМО (приказ № 302н). Неврологический статус с акцентом на экстрапирамидную патологию: – определение мышечного тонуса; – наличие или отсутствие гиперкинезов, их характеристика.
Пульмонолог	Выявление клинических признаков поражения бронхолегочной системы.
ЛОР	Входит в ПМО (приказ № 302н). Выявление субатрофического процесса в ВДП / аллергического ринита.
Офтальмолог	Входит в ПМО (приказ № 302н). Определение кольца Кайзера-Флейшера при биомикроскопии.
Дерматолог	Входит в ПМО (приказ № 302н). Выявление аллергических поражений кожи.
Аллерголог	Входит в ПМО (приказ № 302н).

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора (протокол № 8 от 26.12.2016). У работников было взято информированное согласие.

2.3.1 Анкетный опрос и интервью работников предприятия

До начала исследования работники проходили анкетирование, включавшее в себя вопросы о трудовом стаже и состоянии здоровья. В ходе интервьюирования работники предприятий опрашивались о выполняемых служебных обязанностях, состоянии здоровья, наличии вредных привычек. Основной задачей при

анкетировании было повышение качества выборки и исключение факторов, способных повлиять на достоверность полученных данных, учитывая малое количество участников исследования.

2.3.2 Отбор групп рабочих для исследования

Для проведения исследования было выделено три группы лиц:

- 1 группа — разлившики и плавильщики черновой меди (аэрозоли конденсации сложного состава с наличием наночастиц меди);
- 2 группа — плавильщики при производстве катанки из катодной меди (аэрозоли конденсации с преобладанием в аэрозоле наночастиц меди высокой чистоты);
- 3 группа — операторы узла затарки при производстве медных порошков (аэрозоли дезинтеграции с частицами более 100 нм из меди высокой чистоты).

Отбор лиц осуществлялся по следующим критериям:

- пол мужской;
- возраст 18-60 лет;
- непрерывный стаж в профессии более 10 лет;
- отсутствие выявленных заболеваний со стороны ЦНС, гепатобилиарной, почечной систем, соединительной ткани, недавних травм;
- отсутствие признаков злоупотребления алкоголем;
- отсутствие общих медицинских противопоказаний к забору крови.

В случае соответствия работника заявленным критериям, ему разъяснялись цели и задачи исследований, проводимых процедур и манипуляций, предлагалось подписать форму информированного согласия.

По результатам отбора из 224 обследованных работников были сформированы 3 группы по 20 человек.

2.3.3 Статистическая обработка результатов

Оценка статистической значимости межгрупповых различий средних показателей оценивалась при парном сравнении отдельных показателей с помощью t-теста Стьюдента.

Резюме

В главе представлена характеристика объектов и используемых методов исследования. Описан общий дизайн и условия реализации проведенного исследования. Указаны исследуемые параметры экспериментов.

Глава 3.

УСЛОВИЯ ТРУДА НА РАЗЛИЧНЫХ ЭТАПАХ ПЕРЕРАБОТКИ МЕДСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

3.1 Описание технологических процессов и оценка условий труда на различных этапах переработки медьсодержащего сырья

3.1.1 Медеплавильный цех

Плавка поступающего в цех сырья осуществляется в отражательных печах с продувкой воздухом.

В составе поступающей на переработку меди содержится кремний, железо, кобальт, свинец, олово, цинк сера, селен, золото, серебро мышьяк, сурьма и другие металлы. По результатам рафинирования в меди остаются примеси теллура, серебра, золота, селена. В ходе окислительных процессов образуется существенное количество одновалентного оксида меди, требующего применения восстановителей.

Температура расплава меди к концу окисления должна быть от 1130 °С до 1160 °С. Во время разлива температуру металла поддерживают в пределах от 1160 °С до 1220 °С.

В результате плавки на отражательных печах и последующего разлива металла получают аноды с содержанием меди до 99 %. Для выпуска металла летку начинают разделять сверху вниз до уровня расплавленного металла в печи. Далее разделку летки ведут постепенно по мере выпуска из печи расплавленного металла, который должен вытекать из печи ровной струей.

Расплав меди, разлитый в изложницу, застывает в форме анода. Во время движения разливочной машины изложницы с отлитыми в них анодами проходят через систему нижнего и верхнего охлаждения. С круга разливочной машины аноды снимаются двумя анодосъемщиками и устанавливаются в ванны с циркулирующей водой.

Из ванн анодосъемщиков аноды захватывают мостовым краном с помощью специальной вилки, помещают в анодные вагонетки, где производят их обработку и сортировку.

График работы мастеров, плавильщиков и литейщиков предполагает 36-часовую рабочую неделю, продолжительность смены — 8 часов. Количество работников, занятых в обслуживании отражательных печей, зависит от фактического объема производства и не превышает 30 человек в смену.

Средствами индивидуальной защиты рабочих являются спецодежда, спецобувь, рукавицы, перчатки, защитные очки или щитки, маски, респираторы, каски, беруши.

Производственный контроль за соблюдением санитарных правил и выполнением санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий осуществляется по программе (плану) производственного контроля.

Результаты оценки условий труда на рабочем месте разливщика и плавильщика на плавке анодной меди представлены в таблице 6. Данные получены по результатам исследований, проведенных силами ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии Свердловской области» и ведомственной лаборатории АО «Уралэлектромедь» в период с 2008-го по 2017 год, и верифицированы замерами, проведенными нами в ходе исследований условий труда на рабочих местах в 2018–2019 годах (полученное расхождение не превысило 5 % от фактических значений).

Средний показатель содержания меди по результатам производственного контроля и данных, полученных в ходе проведенных исследований воздуха рабочей зоны разливщика и плавильщика при плавке черновой меди, составил $0,16 \pm 0,031$ мг/м³.

Таблица 6 — Контролируемые факторы производственной среды и трудового процесса в медеплавильном цехе

Контролируемый производственный фактор	ПДК, ПДУ	Кол-во измерений	Результат измерений (средний)	Класс условий труда	Общая оценка условий труда рабочего места (класс условий труда)
Воздух рабочей зоны					3.2.
Свинец и его неорганические соединения	0,05 мг/м ³	150	0,054±0,008	3.1.	
Мышьяк, неорганические соединения	0,04 мг/м ³	1050	0,0086±0,0021	2.0.	
Мышьяк, неорганические соединения	0,01 мг/м ³	150	0,0085±0,0021	2.0.	
Медь м/р	1 мг/м ³	60	0,160±0,031	2.0.	
Медь с/с	0,5 мг/м ³	300	0,141±0,028	2.0.	
Кадмий и его неорганические соединения	0,05 мг/м ³	360	менее 0.005	2.0.	
Кадмий и его неорганические соединения	0,01 мг/м ³	150	менее 0.005	2.0.	
Никель, никель оксиды, сульфиды и смеси соединений никеля (файнштейн, никелевый концентрат и агламерат)	0,05 мг/м ³	1050	0,0033±0,0008	2.0.	
Цинк оксид	1,5 мг/м ³	30	менее 0.05	2.0.	
Цинк оксид	0,5 мг/м ³	150	менее 0.05	2.0.	

Сера диоксид+ (сернистый ангидрит)	10 мг/м ³	120	менее 5	2.0.	
Углерод оксид	20 мг/м ³	30	менее 5	2.0.	
Шум	75 ДБА	20	86	3.2.	
Инфразвук					
Вибрация общая		6		2.0.	
Вибрация локальная	126	3	112,114,116	2.0.	
Микроклимат		200		3.2.	
Тяжесть труда				2.0	
Напряженность труда				2.0	

3.1.2 Цех медной катанки

Для производства катанки шихтой служит катодная медь марки М00к, катодные остатки порошкового цеха АО «Уралэлектромедь», а также отходы оборотные, образующиеся в собственных процессах производства катанки медной, проволоки медной и жилы токопроводящей медной (материалы шихты характеризуются практически полным отсутствием примесей).

С помощью лебедки заполненная шихтой корзина поднимается на высоту завалочного окна плавильной печи, при этом происходит опрокидывание корзины и загрузка шихты в шахтную печь. Плавка шихты проводится в шахтных печах при помощи природного газа. Процесс плавления шихты осуществляется за счет тепла, выделяемого при сгорании природного газа в горелках, причем горелки настраиваются таким образом, чтобы обеспечить восстановительную атмосферу в шахтной печи и предотвратить окисление меди.

Расплавленная в шахтной печи медь попадает через леточное отверстие в соединительный желоб. По мере накопления шлака производится его съем.

Из соединительного желоба расплав попадает в печь-миксер, где с помощью холодных присадок прокатного скрапа достигается соответствующая температура литья. Из печи-миксера расплав меди поступает в литейный желоб, где контролируется и корректируется содержание кислорода в расплаве и происходит фильтрование расплава меди с помощью керамических или циркониевых фильтров.

Через раздаточную часть литейного желоба готовый к литью металл попадает в литейный ковш, где проходит последний этап фильтрации через циркониевый фильтр, и далее направляется в литейную машину. В литейный желоб устанавливается циркониевый фильтр 20 ррi, а в литейный ковш — циркониевый фильтр 30 или 40 ррi. При осуществлении литья литейный ковш переводится в положение литья, и металл поступает в литейную машину. После начала литья в литейный ковш, чтобы не происходило окисление меди, добавляется древесный уголь.

Одновременно с подачей металла в литейную машину включаются:

- система нанесения покрытия на литейные ленты и блоки кристаллизатора;
- воздушный обдув литейных лент;
- система подачи охлаждающей воды на литейные ленты.

После прохождения камеры вторичного охлаждения заготовка направляется в изгибающий рольганг, где переводится из наклонного положения в горизонтальное.

Процесс рубки заготовок продолжается до достижения необходимого содержания кислорода, температуры металла и скорости плавления. Рубленые заготовки при помощи сталкивателя направляются в склиз для транспортировки заготовок в контейнеры. Далее заготовки передаются на прокатку. По достижении скорости литья 10 м/мин. и соответствующей температуры заготовки включается синхронный режим литья и прокатки. Система подачи осветлителя переводится в автоматический режим. Останавливаются маятниковые ножницы, опускается подъемный стол, и заготовка поступает в прокатный стан.

После прокатки катанка с помощью отклоняющей направляющей направляется в линию осветления, где на поверхность катанки подается водный раствор изопропилового спирта. Процесс восстановления-осветления поверхности катанки проходит при температуре последней не ниже 300 °С. На этом же агрегате в автоматическом режиме происходит нанесение ингибитора коррозии бензотриазола (1,2,3-бензотриазол).

После линии осветления медная катанка с помощью изгибающего рольганга переводится из горизонтального положения в вертикальное и проходит через камеру нанесения консервационного покрытия с использованием воскового раствора.

Далее катанка наматывается в бунты розеточным способом и передаётся на упаковку.

График работы мастеров, плавильщиков и литейщиков предполагает 36-часовую рабочую неделю, продолжительность смены — 8 часов. Работа

организована в 3 смены. На предприятии имеется утвержденный перечень спецодежды, спецобуви и других СИЗ (средства индивидуальной защиты).

Результаты оценки условий труда на рабочем месте разлищика и плавильщика при плавке катодной меди представлены в таблице 7. Данные получены по результатам исследований, проведенных силами ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии Свердловской области» и ведомственной лаборатории АО «Уралэлектромедь» в период с 2008 по 2017 год, и верифицированы замерами, проведенными нами в ходе исследований условий труда на рабочих местах в 2018-2019 годах (полученное расхождение не превысило 5 % от фактических значений).

Средний показатель содержания меди по результатам производственного контроля и данных, полученных в ходе проведенных исследований воздуха рабочей зоны плавильщика и литейщика при плавке катодной меди, составил $0,07 \pm 0,017$ мг/м³.

Таблица 7 — Контролируемые факторы производственной среды и трудового процесса в цехе медной катанки

Контролируемый производственный фактор	ПДК, ПДУ	Количество измерений	Результат измерений (средний)	Класс условий труда	Общая оценка условий труда рабочего места (класс условий труда)
Воздух рабочей зоны					3.2
Химический					
Медь	1 мг/м ³	120	0,07±0,017	2	
Медь, с.с	0,5 мг/м ³	320	0,066±0,016	2	
Углерод оксид	20 мг/м ³	20	5,0±1,0	2	
Азота оксиды (в пересчете на NO ₂)	5 мг/м ³	120	Менее 1,0	2	
Кремний диоксид кристаллический при содержании в рыли от 10до 70%	6 мг/м ³	32	2,32±0,56	2	
Кремний диоксид кристаллический при содержании в рыли от 10до 70%, с.с	2 мг/м ³	32	1,84±0,44	2	
Шум	80 дБА	14	89,4	3.2	
Инфразвук					
Ультразвук воздушный					
Вибрация общая	100	14	92	2	
Вибрация локальная					
Ультразвук контактный					
Ионизирующее излучение					
Микроклимат	опт	180		4	
Освещение	75	9	20	3.1	
Тяжесть труда				2	
Напряженность труда				2	

3.1.3 Цех медных порошков

Производство медного порошка реализовано на 2 видах технологических линий. Основное производственное помещение цеха медных порошков (ЦМП) в соответствии с технологическими стадиями разделено на следующие отделения и участки:

- отделение электролиза;
- отделение обработки;
- отделение смешивания.

Отделение обработки включает в себя участки мокрой обработки, сушки, размола и просева медного порошка, а также участок по производству восстановленных медных электролитических порошков, оборудование которых расположено последовательно друг за другом по ходу технологического процесса. Часть оборудования ЦМП смонтирована на верхних площадках, что позволяет транспортировать материал самотеком от одного агрегата к другому.

Отделение смешивания включает участки по опробованию медного порошка и расчету смешиваний, подготовки смешиваний, контрольного просева и затаривания, укладки и упаковки готовой продукции.

Технологический процесс производства порошков включает в себя следующие стадии:

- электролиз порошка;
- мокрую обработку;
- сушку;
- сухую обработку;
- опробование, расчет шихты, смешивание;
- контрольный просев;
- затаривание и упаковку.

Механизм протекания электролиза из серноокислого электролита сводится к электрохимическому растворению под действием электрического тока медных анодов (положительно заряженных электродов) и осаждению ионов меди в виде

дендритного осадка (порошка) на медных стержневых катодах (отрицательно заряженных электродах).

Анодами являются катоды ЦЭМ. Получение рыхлого порошкообразного осадка ведется в условиях низкой концентрации разряжающихся ионов меди в прикатодном слое и высокой плотности тока (количество тока (выраженное в амперах), приходящееся на 1 м² поверхности электродов, отношение токовой нагрузки к площади электродов). При таких условиях происходит образование на поверхности катода частиц сложной дендритной формы.

Электролиз осуществляют в ваннах бункерного типа, которые оснащены односторонне расположенными токоподводящими медными шипами, анодами и стержневыми катодами. Порошок из ванны выгружают донной выгрузкой. После мокрой обработки промытый, отжатый порошок через бункер направляется на технологические линии сушки порошка в трубу-сушилку. После сушки сухую обработку порошка ведут на шести технологических линиях и центробежном классификаторе «Брэдли» MS-5. Порошок после сушки поступает в турбинную мельницу, где проходит непрерывный размол. Для регулирования грансостава порошка и насыпной плотности предусмотрена регулировка скорости размола. Затем порошок проходит рассев на грохотах.

На классификаторе «Брэдли» MS-5 производят высокодисперсные порошки марок ПМС-М1, ПМС-М2, ПМС-М3, ПМС-М4 (Таблица 8).

После получения порошка заданной фракции кубели с рассчитанной шихтой (6 кубелей — одно смешивание) направляют на узел смешивания и затаривания, где устанавливают на тележку и подают в загрузочную камеру. Порошок из кубелей с помощью опрокидывателя выгружают в смеситель и перемешивают от 3 до 7 мин. Затем порошок автоматически выгружают в бункер под смесителем и направляют на контрольный просев.

Схема узла смешивания и затаривания включает в себя конвейер NTP, установку взвешивания ВД, состоящую из весов дозирующего устройства АР 1100 и бункера, элеваторы ЕМ, ЕР1, ЕР2, смесители Мх1, Мх2, контрольные вибросты РС1, РС2, установку для стабилизации, весы для готовой продукции, управляющие

щиты. Смешивание возможно в ручном и автоматическом режимах работы. В ходе затарки порошка в тару биг-бэг устанавливают на деревянный или пластиковый оборотный поддон и затаривают на весах электронных товарных, оснащенных устройством фиксации биг-бэга. Далее готовую продукцию передают на склад.

Таблица 8 — Марки медных порошков

Марка	Гранулометрический состав*, размер ячейки сетки, мкм
ПМС-1, ПМС-А, ПМС-12,	100,71,45
ПМС-В, ПМС-В(О)	224, 140, 100, 63, 45, остаток
ПМС-Н	224
ПМС-Н (для ЦППИ)	224, 140, 100, 71,45, остаток
ПМС-К	450,180
ПМР	100
ПМС-11	100, 63
ПМЛ-0, ПМЛ-2, Г1МЛ-3	63
ПМС-М1, Г1МС-М2	45
Г1МС-М3, ПМС-М4	25

Фактически процесс затарки всегда сопровождается контролем со стороны оператора затарки. Учитывая, что именно на данном технологичном этапе наблюдается контакт работника со всеми фракциями медного порошка, получаемыми в ходе технологического процесса, а также что данная операция характеризуется пылением готовой продукции и наличием просыпи порошков, именно узел затарки был выбран в качестве контрольной точки исследования воздействия аэрозолей меди с размером частиц более 100 нм на работника.

График работы предполагает 36-часовую рабочую неделю, продолжительность смены — 8 часов. Производственный персонал обеспечен средствами индивидуальной защиты: спецодеждой, спецобувью, перчатками, защитными очками или щитками, масками, респираторами, касками, берушами и т.д.

С целью поддержания нормального атмосферного режима в ЦМП предусмотрена приточная вентиляция с 3-кратным обменом воздуха в течение одной рабочей смены и системы аспирации для улавливания медной пыли из рабочей зоны. Производственный контроль за соблюдением санитарных правил и выполнением санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий осуществляется по программе (плану) производственного контроля.

Результаты оценки условий труда на рабочем месте разлищика и плавильщика при плавке черновой меди представлены в таблице 9. Данные получены по результатам исследований, проведенных силами ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии Свердловской области» и ведомственной лаборатории АО «Уралэлектромедь» в период с 2008 по 2017 год, и верифицированы замерами, проведенными нами в ходе исследований условий труда на рабочих местах в 2018-2019 годах (полученное расхождение не превысило 5 % от фактических значений).

Таблица 9 — Контролируемые факторы производственной среды и трудового процесса в цехе медных порошков

Контролируемый производственный фактор	ПДК, ПДУ	Кол-во измерений	Результат измерений (средний)	Класс условий труда	Общая оценка условий труда рабочего места (класс условий труда)
Воздух рабочей зоны					2
Химический					
Медь	1 мг/м ³	30	0,77	2	
Медь, с.с	0,5 мг/м ³	150	0,42	2	
Шум	75 дБА		74,6	2	
Микроклимат	опт	42		2	
Тяжесть труда				2	
Напряженность труда				2	

Средний показатель содержания меди по результатам производственного контроля и данных, полученных в ходе независимого исследования воздуха рабочей зоны оператора узла затарки в цехе медных порошков, составил $0,77 \pm 0,031$ мг/м³.

Резюме

На рабочем месте разлищика и плавильщика при плавке черновой меди условия труда оцениваются как вредные (2 степень 3 класса). Превышения обнаружены по содержанию свинца в воздухе рабочей зоны, показателям микроклимата и шума.

На рабочем месте плавильщика и литейщика при плавке чистой (катодной) меди цеха медной катанки условия труда оцениваются как вредные (2 степень 3 класса). Превышения обнаружены по показателям освещённости и шума.

На рабочем месте оператора узла упаковки в цехе медных порошков условия труда оцениваются как допустимые (2 класс).

По итогам проведенных исследований наибольшая концентрация меди в воздухе рабочей зоны наблюдается на рабочем месте оператора узла затарки в цехе медных порошков ($0,77 \pm 0,031$ мг/м³), далее — рабочем месте разлищика и плавильщика при плавке черновой меди в медеплавильном цехе ($0,16 \pm 0,031$ мг/м³), наименьшая концентрация зафиксирована в воздухе рабочей зоны плавильщика и литейщика при плавке меди в цехе медной катанки ($0,07 \pm 0,017$ мг/м³).

Глава 4.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ДИСПЕРСНЫЙ СОСТАВ АЭРОЗОЛЕЙ

4.1 Исследование дисперсного и химического состава аэрозолей оценки экспозиции к наночастицам меди в условиях производства

Результаты лабораторных исследований рабочих мест на трех исследованных технологических этапах (плавка черновой меди, плавка чистой меди, упаковка медных порошков) показали существенное различие в концентрации меди в аэрозоли воздуха рабочей зоны. Учитывая различия физических процессов образования аэрозоля (аэрозоли конденсации в случае плавки и аэрозоли дезинтеграции при работе с медными порошками), а также различия в составе исходного сырья, появилась необходимость описания свойства аэрозолей на каждом из исследованных технологических этапов с позиций дисперсного и химического составов.

Проведенный этап исследования предполагал оценку факта наличия или отсутствия наночастиц в составе аэрозоля. По итогам отбора на фильтры анализа с использованием СЭМ в соответствии с ранее описанной методологией на рабочем месте разлива чистой меди на фильтре АФА зафиксирован захват всех частиц аэрозоля (Рисунок 4). На фильтрах АФА и нитроцеллюлозном обнаружены частицы более и менее 100 нм (Рисунок 5).

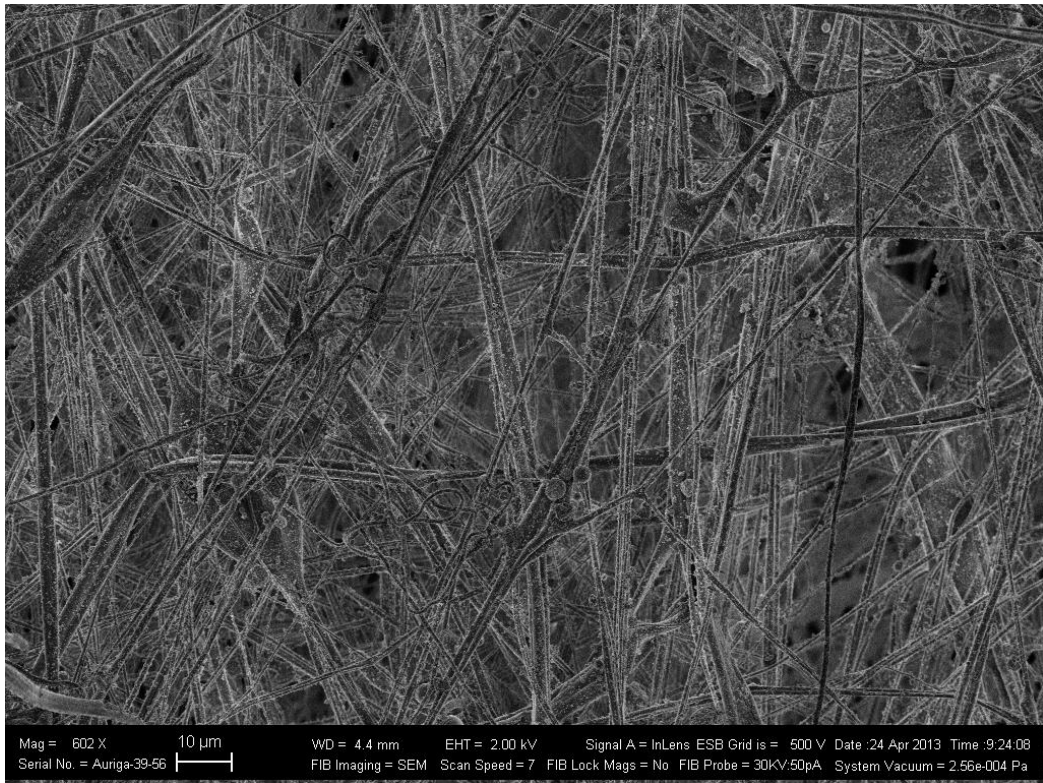


Рисунок 4 — Частицы аэрозоля. Фильтр АФА, Маг - 602 х

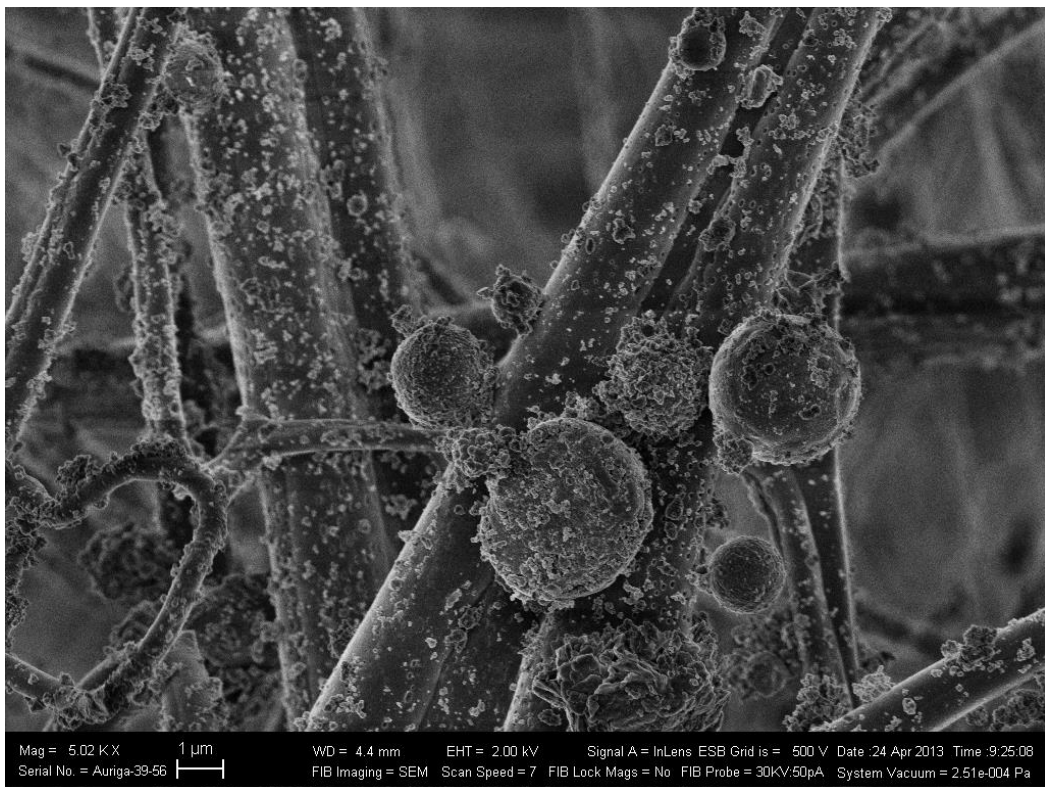


Рисунок 5 — Частицы аэрозоля. Фильтр АФА, Маг - 5000 х

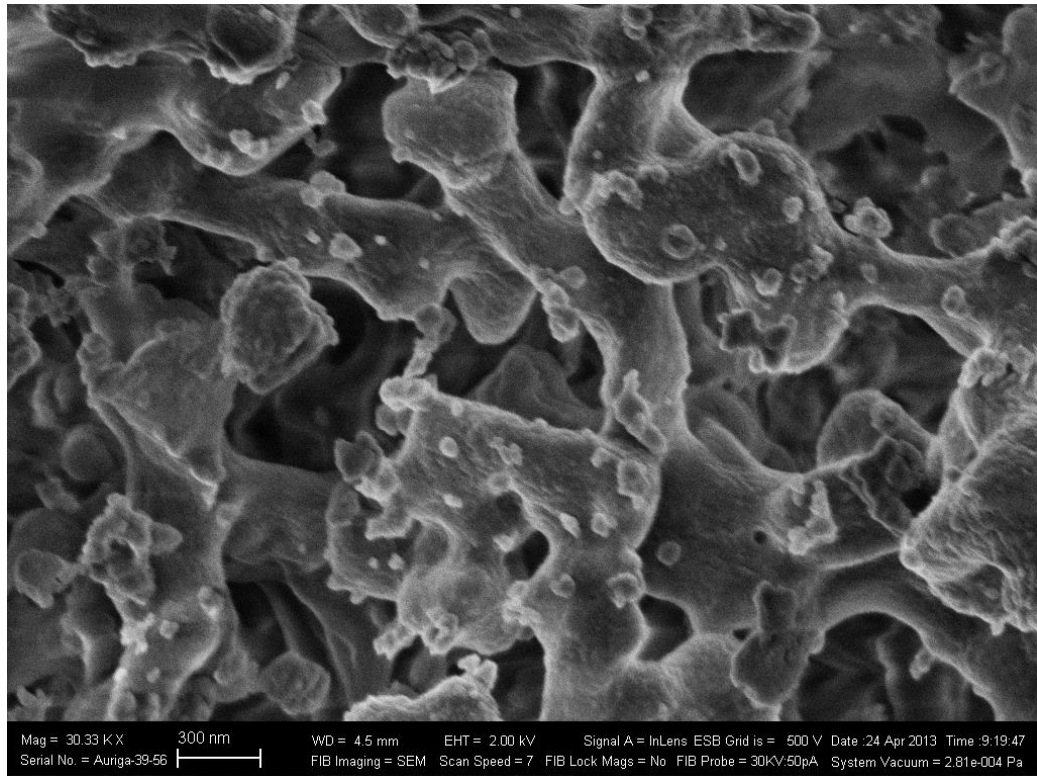


Рисунок 6 — Частицы аэрозоля.

Центральная область нитроцеллюлозного фильтра

По результатам проведения контрольных исследований с целью определения факта наличия / отсутствия наночастиц в воздухе рабочей зоны при разных металлургических процессах тем же методом нами проводился отбор и анализ проб аэрозоля в цехе медных порошков.

В дальнейшем для получения данных о дисперсном и в целом о химическом составе аэрозоля использовали отбор на калиброванные поликарбонатные и глинозёмные фильтры с заданным размером пор как наиболее подходящие для электронной микроскопии и подсчёта частиц, поскольку нитроцеллюлозные и волокнистые фильтры, характеризуясь объёмной структурой, поглощают определённое количество части в объём самого фильтра, что осложняет процедуру качественного и количественного анализа наночастиц.

Непосредственно в данном типе исследований применялись трековые мембраны Nuclepore (поликарбонатные мембраны) и Anopore (глинозёмные мембраны) фирмы Whatman. Контроль дисперсного состава проводился счетным методом в поле зрения. Полученный в ходе отбора материал позволил прицельно

считать отдельные частицы и агломераты в общей массе аэрозоля. Пример представлен на рисунке 7.

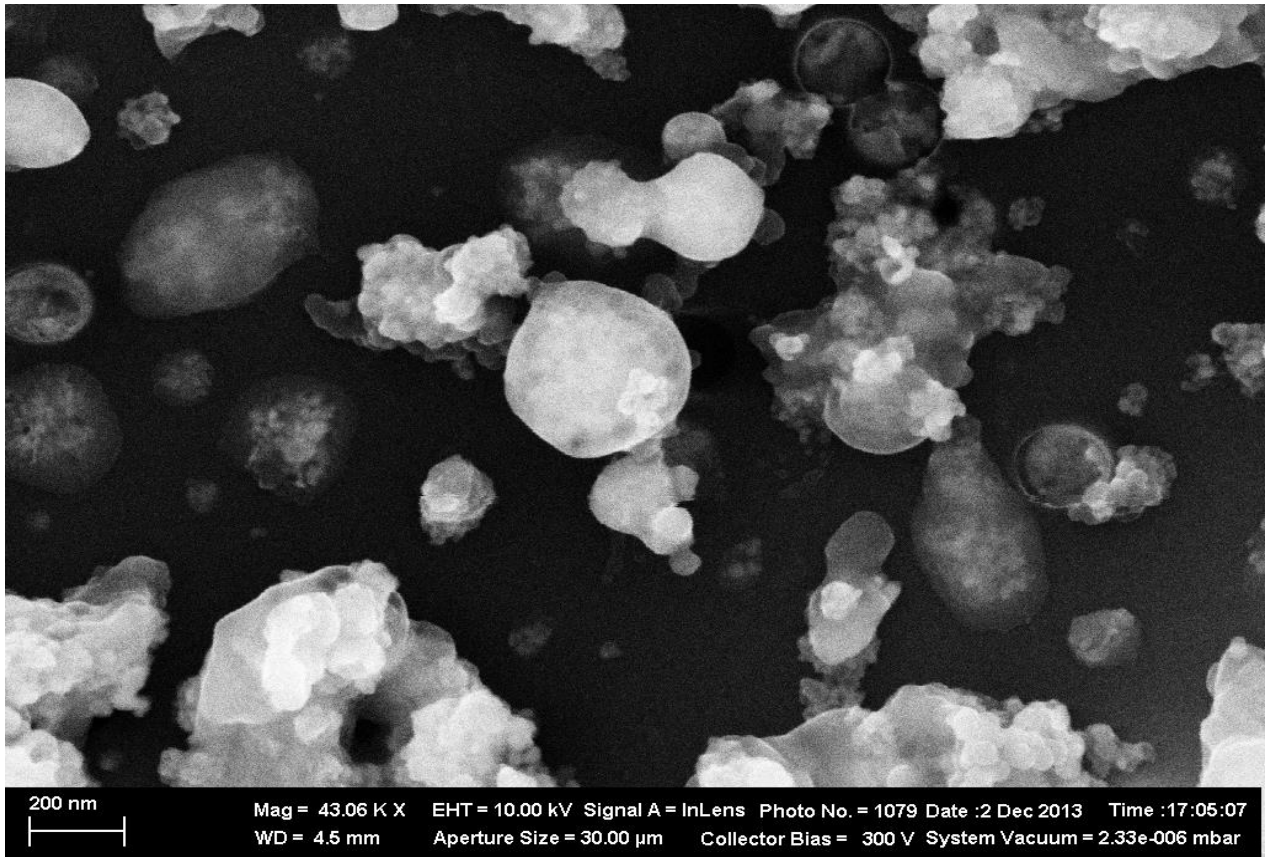


Рисунок 7 — Частицы аэрозоля. Центральная область глинозёмной мембраны

4.1.1 Цех производства медных порошков.

Рабочее место оператора узла затарки

По итогам проведенных исследований получено подтверждение отсутствия частиц наноразмерного диапазона на фильтрах в аэрозолях дезинтеграции: обнаружены частицы меди дендритной структуры микрометрового диапазона (Рисунок 8, 9).

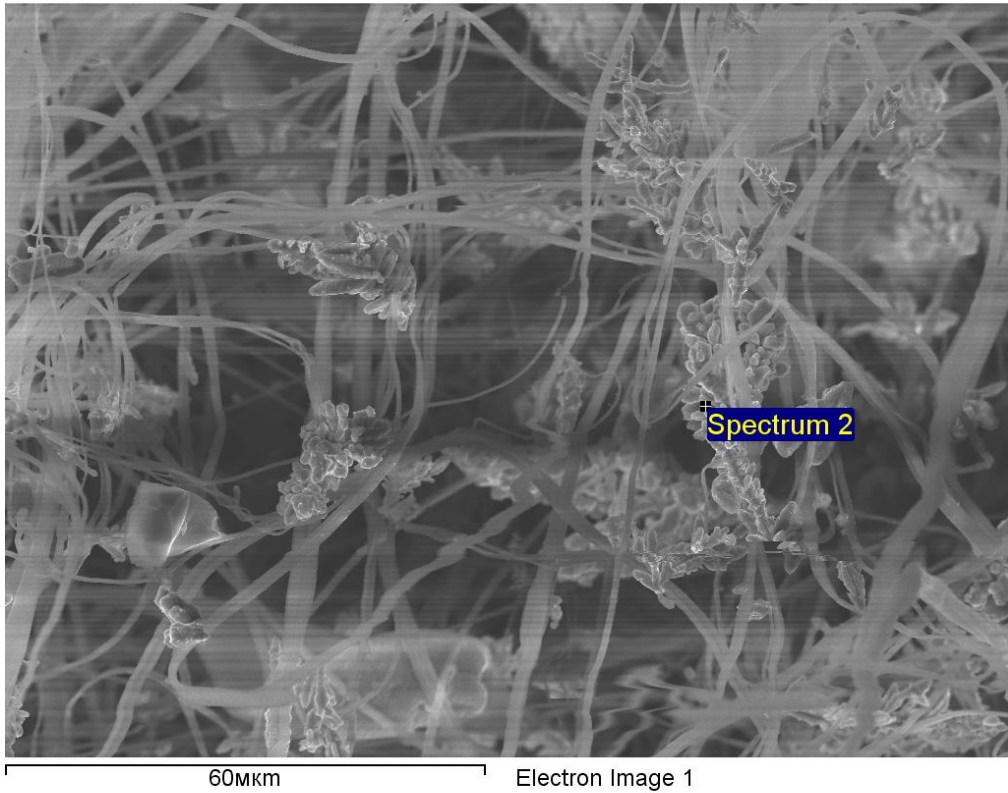


Рисунок 8 — Частицы аэрозоля в воздухе рабочей зоны цеха медных порошков
Mag – 402 x

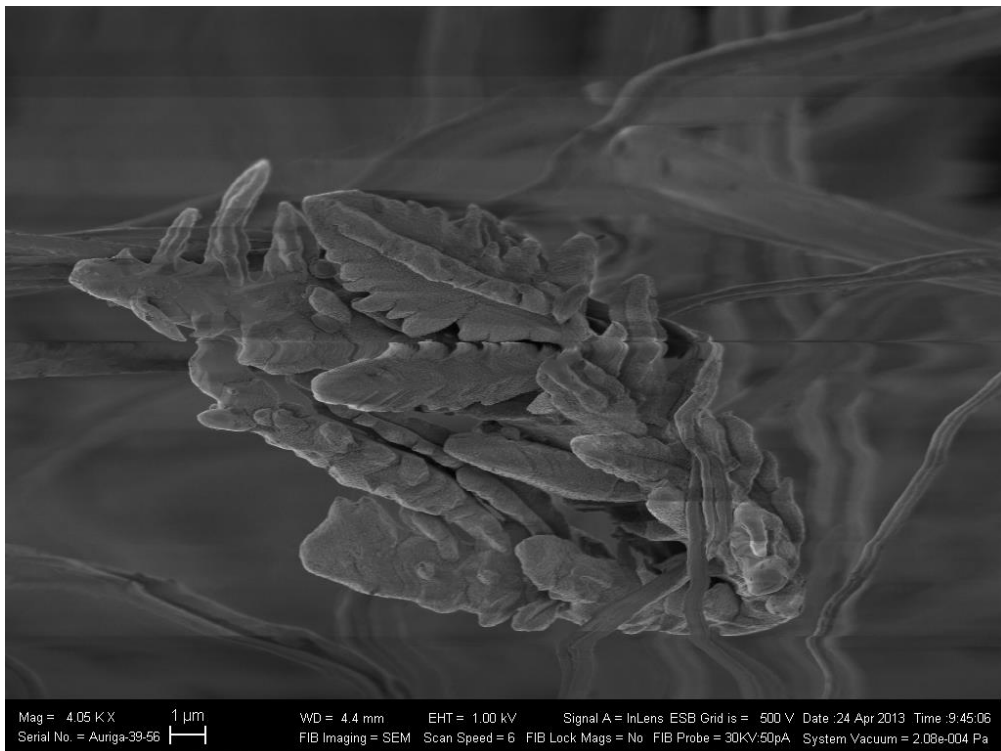


Рисунок 9 — Частицы аэрозоля в воздухе рабочей зоны цеха медных порошков
Mag - 4000x

Все частицы аэрозоля представлены микрометровыми частицами дендритной формы, состоящей из чистой меди и её окислов (Рисунок 10, Таблица 9). Наличие иных элементов на спектрограмме обусловлено материалами фильтров и проведенным напылением хрома.

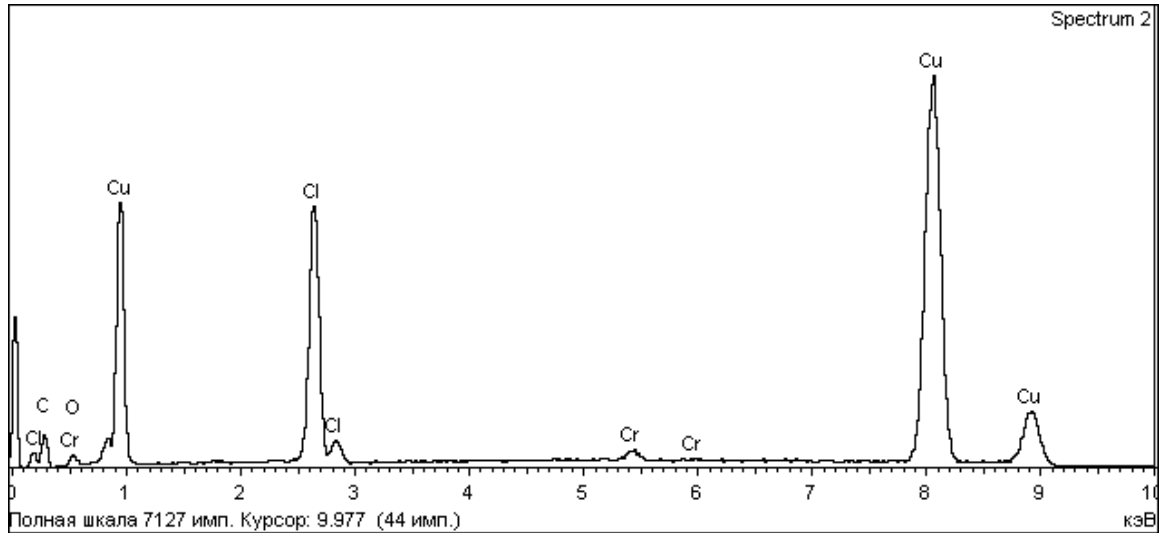


Рисунок 10 — Рентгеновский спектр частицы аэрозоля воздуха рабочей зоны

Таблица 9 — Элементный состав частиц

	Cu	C	Cl	O	Cr	
Спектр 2	76.43	12.60	9.33	0.96	0.69	Весовой %
	46.48	40.52	10.17	2.31	0.51	Атомный %

Массовая доля наночастиц, по данным TSI NanoScan (размерностью менее 100 нм), составила 0,11 %; более 100 нм — 99,89 % (Рисунок 11).

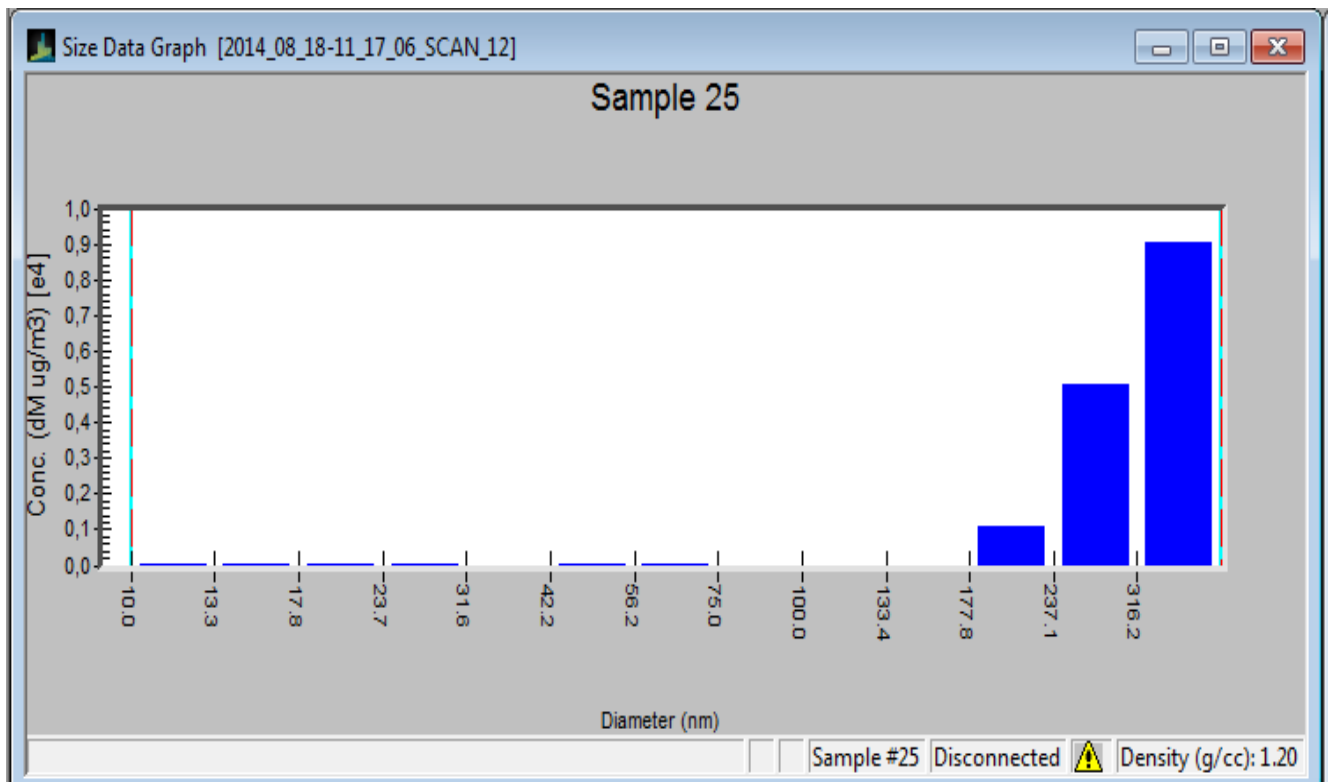


Рисунок 11 — Функция распределения размеров частиц, при производстве медных порошков

Аэрозоль, представленный на данном рабочем месте, можно рассматривать как эталонный с позиции воздействия на организм меди высокой чистоты, представленной исключительно частицами микрометрового диапазона.

4.1.2 Медеплавильный цех.

Рабочее место разлищика и плавильщика при плавке черновой меди

Аэрозоль представлен миксом частиц различной формы и размеров с преобладанием наночастиц.

Химический анализ аэрозоля, полученного при плавке черновой меди, показал преобладание меди в его составе, при этом отмечается существенная неоднородность и вариабельность химического состава отдельных частиц и конгломератов (Рисунок 12, Таблица 10).

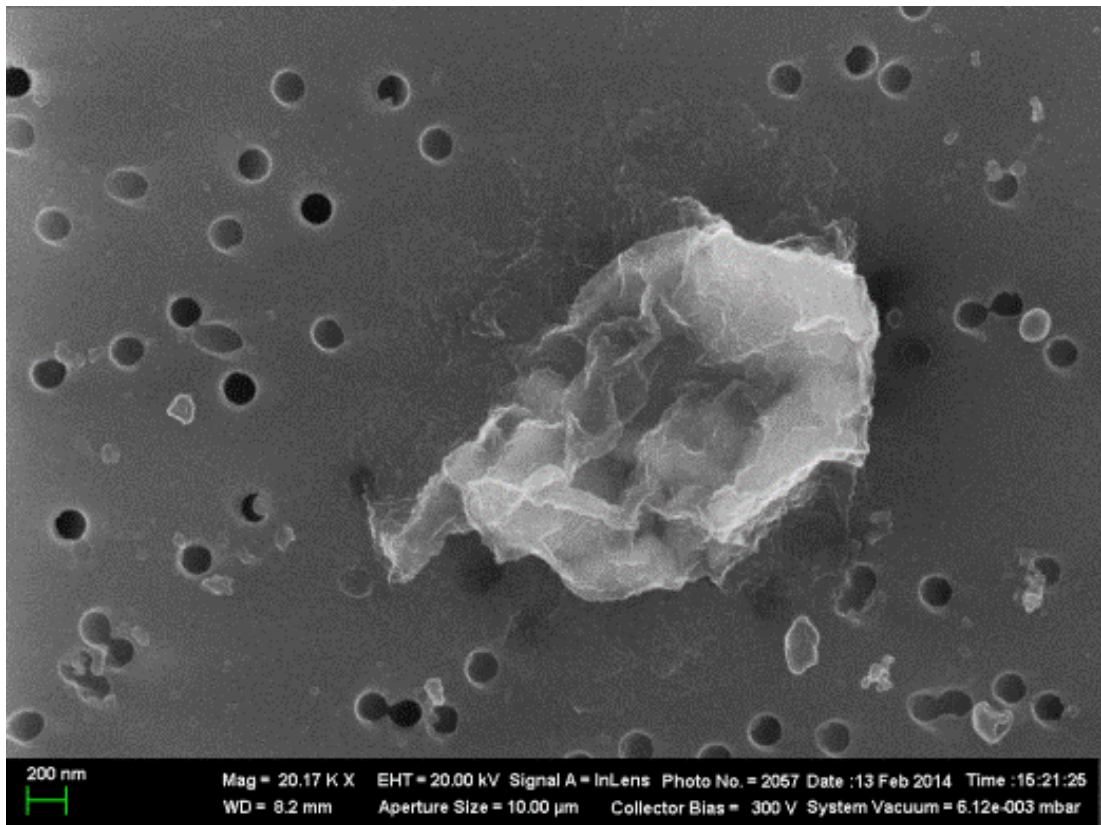


Рисунок 12 — Частицы аэрозоля в воздухе рабочей зоны медеплавильного цеха

Таблица 10 — Элементный состав частиц

	Na, ат. %	S, ат. %	Cu, ат. %	Zn, ат. %	As, ат. %	Pb, ат. %
Спектр 1	13	29	32	6	12	8
Спектр 2	-	28	54	11	7	-

Массовая доля наночастиц, по данным TSI NanoScan (размерностью менее 100 нм), составила 15,68 %, частиц более 100 нм — 84,32 %.

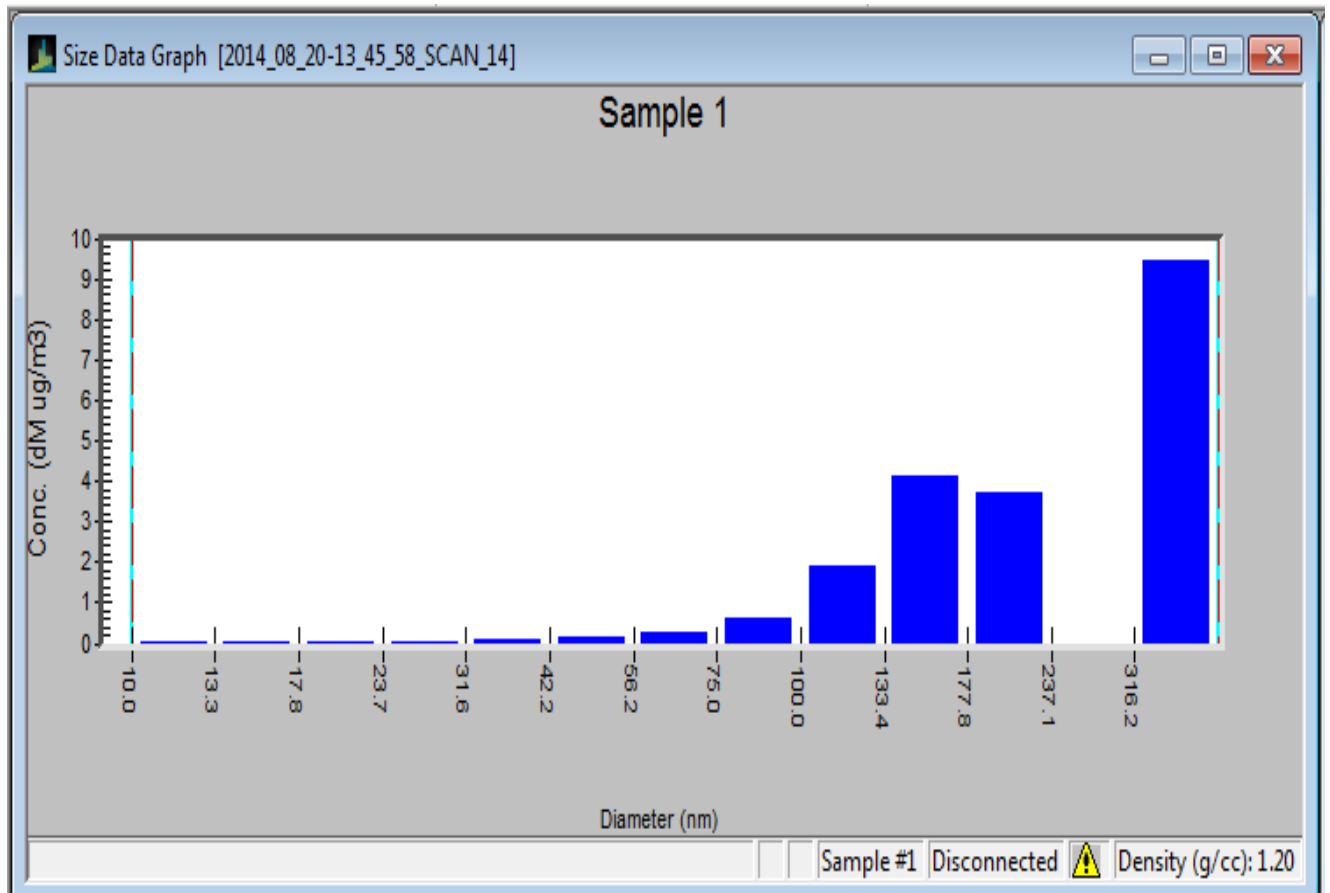


Рисунок 13 — Функция распределения размеров частиц, медеплавильного цеха

Распределение частиц по размерам, полученное счетным методом, подтвердило данные, полученные с TSI NanoScan (Рисунок 13), что подтверждает правильность подобранных нами методов исследования.

4.1.3 Рабочее место разлищика при плавке катодной меди

Исследование аэрозоля на рабочих местах разлищиков при плавке катодной меди показало сходную ситуацию по преобладанию в аэрозоле наночастиц.

Химический состав частиц в цехе медной катанки характеризуется практически полным отсутствием примесей в частицах меди. Количество наночастиц (массовая доля), по данным TSI NanoScan (размерностью менее 100 нм), составило 53,64 %, количество частиц более 100 нм — 46,36 % (Рисунки 14, 15).

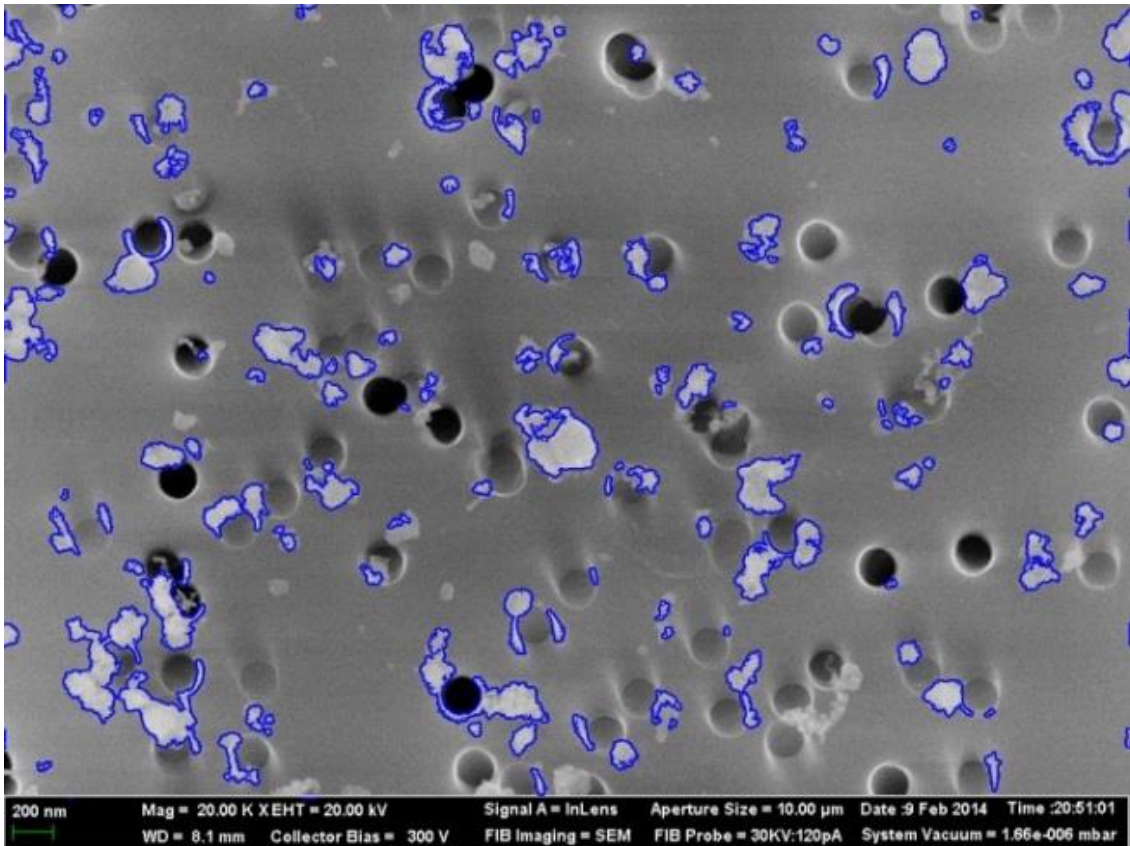


Рисунок 14 — Частицы аэрозоля в воздухе рабочей зоны
при плавке катодной меди

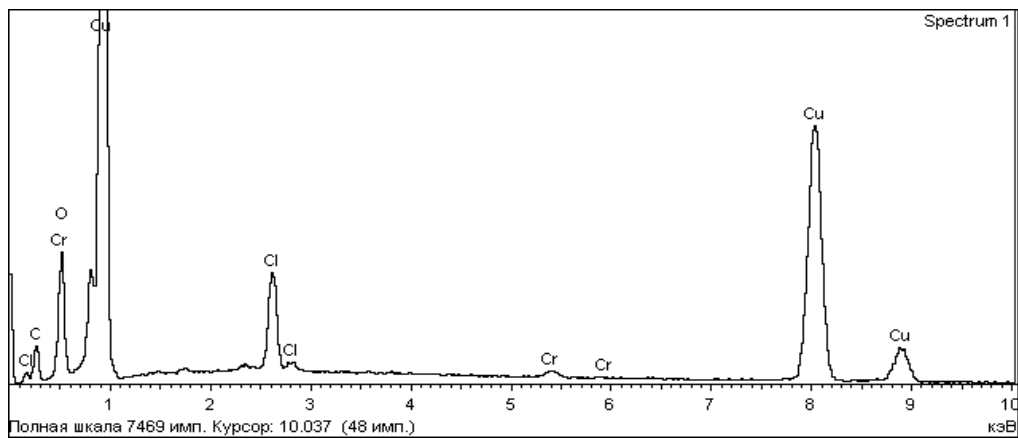


Рисунок 15 — Рентгеновский спектр частицы аэрозоля воздуха рабочей зоны
при плавке катодной меди

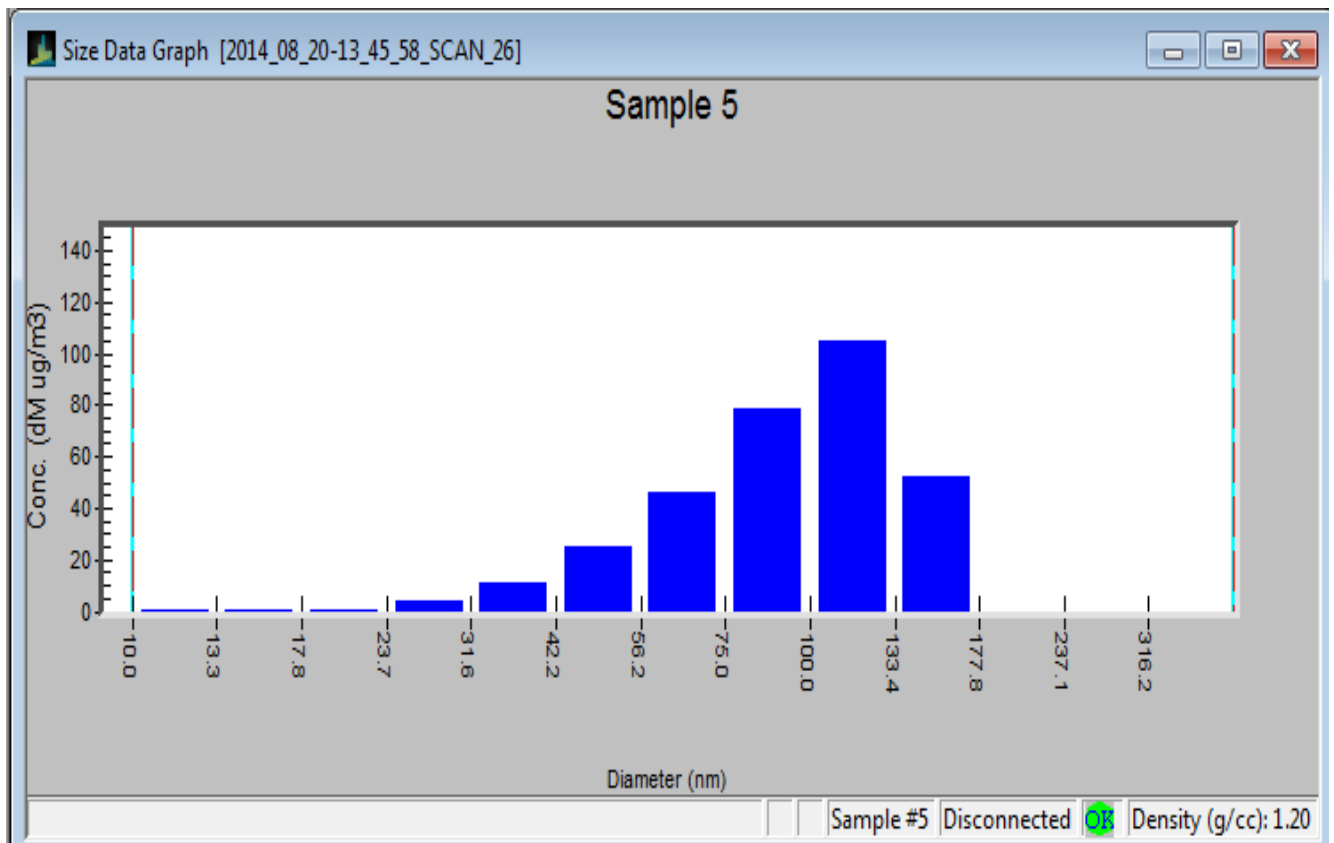


Рисунок 16 — Функция распределения размеров частиц при производстве катанки из чистой (катодной) меди

Данные оценки дисперсного состава по результатам СЭМ также совпали с результатами TSI NanoScan: доля частиц с размерами менее 100 нм составила 54 % (Рисунок 16).

Анализ содержания наночастиц на рабочих местах показал преобладание наночастиц меди при плавке чистой (катодной) меди (аэрозоли конденсации) и практически полное их отсутствие при производстве медных порошков (аэрозоли дезинтеграции). Данные по составу аэрозолей представлены в таблице 11.

Определённые трудности при проведении химического анализа при столь малых линейных размерах образцов представляет сложность фокусировки электронного зонда на частицах, поскольку минимальный сдвиг фокуса с поверхности приводит к захвату в зону анализа поверхности самого фильтра, что даёт искажённые данные по содержанию углерода и кислорода для поликарбонатного фильтра, а также алюминия и кислорода для глинозёмного фильтра. В связи с этим рационально проводить химический анализ на частицах

либо с размерами больше, чем размер фокуса электронного зонда, либо на агломератах частиц, либо по результатам замеров проводить корректировку полученных результатов с учётом химического состава фильтра (подложки).

Таблица 11 — Характеристика рабочих мест по составу аэрозоля

Параметры аэрозоля	Рабочее место разлищика и плавильщика при плавке черновой меди	Рабочее место оператора узла упаковки при производстве медных порошков	Рабочее место плавильщика при производстве катанки из чистой (катодной) меди
Концентрация меди в воздухе рабочей зоны мг/м ³ (количественные методы исследования) (с/с)	0,16±0,031	0,77±0,19	0,07±0,017
Массовая доля частиц более 100 нм %	84,32	99,89	46,36
Массовая доля частиц до 100 нм %	15,68	0,11	53,64
Расчетная масса частиц более 100 нм мг/м ³	0,1349	0,7691	0,0325
Расчетная масса частиц до 100 нм мг/м ³	0,025	0,0008	0,0375

4.1.4 Оценка растворимости макро- и наночастиц в биологической жидкости

Учитывая, что основная доля медных наночастиц, по данным СЭМ, имела поверхностный слой в виде оксидов меди, а сравнение биологических эффектов на крысах предполагает изучение микро- и наночастиц меди, возникла необходимость оценки степени растворимости частиц в биологических средах.

Исследования кинетики растворения МЧ и НЧ проводились в надосадочной жидкости от центрифугирования бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ),

полученной при промывании глубоких дыхательных путей неэкспонированных крыс дистиллированной водой.

Распределение МЧ по размерам после 24-часовой экспозиции в этой среде, полученное путём анализа электронно-микроскопических изображений 600 частиц, представлено на рисунке 17.

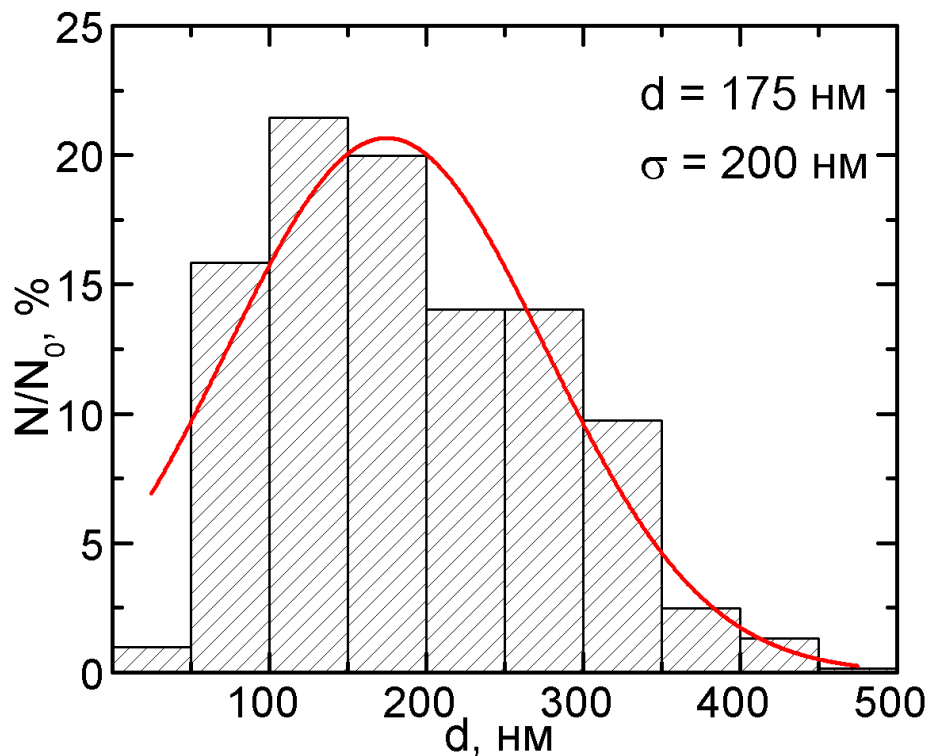


Рисунок 17 — Распределение МЧ по размерам после 24-часового растворения в бесклеточной БАЛЖ

Обнаружено уменьшение размера частиц (340 нм) до 175 нм, что может расцениваться как полное растворение оксидной пленки на поверхности частицы. Металлическое ядро частицы остаётся интактным. В то же время наночастицы, состоящие из оксидов меди, уже через полтора часа полностью растворяются в этой среде. Полученные данные соответствуют результатам ранее проведённых работ по исследованию МЧ и НЧ [141; 263].

Резюме

Оценка результатов исследований показала следующую структуру распределения частиц аэрозоля по размерам на рабочих местах:

– на рабочем месте оператора узла затарки в цехе медных порошков массовая доля наночастиц размерностью менее 100 нм составила 0,11 %, массовая доля наночастиц более 100 нм — 99,89 %;

– в воздухе рабочей зоны разлищика и плавильщика при плавке черновой меди в медеплавильном цехе массовая доля наночастиц размерностью менее 100 нм составила 15,68 %, массовая доля наночастиц более 100 нм — 84,32 %;

– в воздухе рабочей зоны плавильщика и литейщика при плавке меди в цехе медной катанки массовая доля наночастиц размерностью менее 100 нм составила 53,64 %, массовая доля наночастиц более 100 нм — 46,36 %.

По результатам проведенных исследований с применением технологий электронной микроскопии относительно методологии и технического обеспечения можно сделать следующие выводы:

1. Для проведения исследования аэрозолей на предмет содержания наночастиц в условиях существующих технологических процессов реального сектора экономики рационально применение активного отбора проб на оборудовании на скоростях, соответствующих скорости дыхания человека от 0,5–2 л/мин. с учётом механических свойств выбранных фильтров.

2. Для полного захвата всех частиц аэрозоля, в том числе наночастиц, на предложенных скоростях достаточно применение фильтров АФА-ВП.

3. Для электронной микроскопии, для первичного качественного и количественного анализа наночастиц в составе аэрозоля оптимальным вариантом является использование калиброванных мембран с правильной геометрией ячеек, гладкой поверхностью, по возможности не требующих использования растворителей для их просветления.

4. Для исследования НЧ в составе аэрозоля могут применяться как трековые мембраны на основе органических соединений, например поликарбоната, так и мембраны на основе неорганических соединений.

5. При проведении анализа химического состава частиц аэрозоля спектральными методами необходимо учитывать химический состав подложки, на которой находится образец.

Анализ аэрозоля в воздухе рабочей зоны на металлургическом производстве позволил сделать следующий вывод:

1. Наибольшая массовая доля наночастиц в объёме аэрозоля конденсации пирометаллургического предела меди представлена частицами нанометрового диапазона, что коррелирует с ранее полученными результатами оценки дисперсного состава аэрозолей.

2. Дисперсный состав частиц представлен преобладающей фракцией 50–150 нм.

3. Химический состав аэрозоля при плавке катодной меди характеризуется преобладанием чистой меди и её оксидов, более однороден по размеру частиц. Аэрозоли дезинтеграции при отборе на фильтры представлены частицами микрометрового диапазона, частицы нанометрового диапазона на поверхности исследованных фильтров не обнаружены.

4. Максимальная разовая концентрация наночастиц меди в воздухе рабочей зоны находится в диапазоне 0,025–0,04 мг/м³, что является значимым и требует изучения эффектов воздействия на организм.

Глава 5.

РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ (ТОКСИЧЕСКИХ) ЭФФЕКТОВ

5.1 Результаты эксперимента по внутрибрюшинному введению исследуемых частиц крысам

5.1.1 Результаты внутрибрюшинных инъекций

После субхронического воздействия внутрибрюшинных инъекций наблюдается отличие при накоплении меди во внутренних органах в зависимости от размерности частиц. Отмечается большее накопление меди в печени и почках при введении МЧ меди по сравнению с НЧ. Различий по накоплению меди в мозге и селезенке для частиц разной размерности не обнаружено (Таблица 12).

Таблица 12 — Массовая доля меди, мкг на грамм массы сухого органа ($\bar{x} \pm S_x$)

Группа крыс, получившая:	Почки	Печень	Селезенка	Головной мозг
Воду	42,4±2,9	12,2±2,4	22,5±2,1	18,9±0,7
Медьсодержащие МЧ	70,8±8,7*	153,7±13,7* ^o	25,3±4,7	22,1±0,8*
Медьсодержащие НЧ	62,5±7,1*	28,8±6,3*	24,2±1,5	21,5±1,7

Примечание: статистически значимые различия ($P < 0.05$ по t Стьюденту):

* — отличия от контрольной группы; ^o — отличия от группы МЧ.

Особенности накопления меди объясняются различиями в растворимости МЧ и НЧ меди из-за разницы активности окислов меди (более характерных для наночастиц) и чистой меди, более характерной для МЧ.

Необходимо отметить, что при активном растворении меди происходит связывание её ионов специфическими транспортными белками, в частности церулоплазмином, и фактическим перераспределением её по организму в виде

мобильного депо. Учитывая, что оксидные формы меди существенно более растворимы и реактогенны по сравнению с чистой медью, большая часть меди, введенной в виде НЧ, перешла в растворенную фазу и переопределялась по организму, МЧ меди в свою очередь в силу меньшей растворимости успешней задерживались в исследуемых органах.

5.1.2 Оценка показателей токсичности

Результаты оценки токсичности показали наличие сдвигов отдельных показателей, свидетельствующих о возможных различиях воздействия наночастиц и микрочастиц меди. Так, при воздействии наночастиц выявлены изменения со стороны показателей крови: повышение доли ретикулоцитов и снижение гемоглобина. Также обнаружены изменения в части повышения почечной экскреции копрорфирина. Наблюдается снижение активности СДГ, что может говорить о снижении активности метаболизма в клетке, при этом токсикодинамических показателей, по которым МЧ проявили бы, наоборот, более высокую системную токсичность, чем НЧ, не было выявлено.

Исходя из вышесказанного, можно говорить о более высокой токсичности наночастиц по сравнению с микрочастицами. Был зафиксирован первоначальный этап снижения зависимых от работы печени ферментов, в первую очередь аминотрансфераз, что ранее было описано в литературе. Так, например, повышению уровня АЛТ при воздействии токсичных соединений предшествует фаза снижения его уровня в крови, что может быть объяснено только подавлением синтеза гепатоцитами или ингибирующим влиянием токсичного металла на активность фермента. Например, после однократного внутрибрюшинного введения крысам наносеребра Lee с соавт. (2013) наблюдали снижение уровня АЛТ сыворотки в сравнении с параллельным контролем через 1 и 4 дня, отсутствие разницы с контролем через 7 и 10 дней и повышение через 30 дней. С этим же мы связываем эффект существенного снижения уровня (исчерпание имеющихся

оперативных запасов) церулоплазмينا в крови животных перед ожидаемым его повышением при более длительном по времени воздействии наночастиц меди.

Функциональные показатели состояния организма крыс, подвергавшихся субхронической заправке медьсодержащими частицами ($X \pm S_x$), представлены в таблице 13.

Таблица 13 — Функциональные статистически значимые показатели состояния организма крыс, подвергавшихся субхронической заправке медьсодержащими частицами ($X \pm S_x$)

Показатели	Группы, получавшие:		
	НЧ	МЧ	Воду
Масса тела исходная, г.	178,8± 2,50	175,4± 1,80	174,6± 2,71
Масса тела после заправки, г.	225,8± 8,0	224,6± 6,40	217,0± 6,42
СПП, сек.	12,2±1,13°	15,9± 0,96	13,4± 0,84
Норковый рефлекс, кол-во загляд. за 3 мин.	6,1± 1,12	6,0± 0,66	9,1± 1,70
Гемоглобин в крови, г/л	13,4±0,35*°	15,4± 0,38*	16,6±0,40
Эритроциты, 10¹²/л	1,61± 0,05*	1,69± 0,05*	1,84 ± 0,03
Ретикулоциты, %	28,9± 2,14*°	11,0± 1,34	10,45±0,78
Лимфоциты, %	56,9± 2,87	50,6±2,18	56,3± 2,22
Сегментоядерные нейтрофилы, %	57,7± 4,20	65,2± 4,40	54,7± 2,09
Палочкоядерные нейтрофилы, %	3,17± 0,74	3,0± 0,61	3,1± 0,81
Моноциты, %	19,6± 2,17	20,75± 2,04	18,4± 1,42
Эозинофилы, %	7,0± 1,44	9,3± 1,29	10,3± 1,36
Базофилы, %	0,58± 0,19	0,92± 0,23	0,91± 0,33
Общий белок в сыворотке крови, г/л	70,3± 1,18	71,0± 1,13	72,4± 1,28
Альбумины в сыворотке крови, г/л	36,9± 0,71	36,9±0,75	38,336±1,02
Глобулины в сыворотке крови, Г/л	33,3± 0,97	34,0± 1,00	34,0± 1,09
А/Г индекс	1,12± 0,04	1,1± 0,04	1,14±0,05
Активность СДГ, число гранул в 50 лимфоцитах	656,75±11,99*°	744,6± 13,18	737,1± 10,74
SH-группы, ммоль/л	1,05± 0,04	0,99± 0,02	1,08± 0,04

Восстановленный глутатион, ммоль/л	0,64± 0,061	0,68± 0,042*	0,53± 0,044
Активность АлТ в сыворотке крови, ммоль/ч*л	49,25±2,66	55,7±5,19	52,8±3,646
Активность АсТ в сыворотке крови, ммоль/ч*л	234,8±13,29	244,9±20,21	254,7±16,78
Каталаза в сыворотке крови, мкмоль/л	1,44±1,07	1,26±0,19	1,21±0,17
МДА в сыворотке крови, нмоль/л	3,7±0,17*	4,22±0,16	4,0±0,123
Церулоплазмин в сыворотке крови, мг %	80,0±5,46	88,5±7,47	90,9±4,95
Билирубин в сыворотке крови, мкмоль/л	2,37±0,33	2,92±0,57	2,75±0,63
Щелочная фосфатаза в сыворотке крови, Ед/л	117,5±11,10	117,4±9,00	97,75±11,70
Гамма-глутамил-транспептидаза Ед/л	3,52±0,78	3,11±1,15	3,72±0,98
Креатинин в сыворотке крови, Ед/л	34,6±1,34	35,5±1,21	36,8±0,97
Суточный объем мочи, мл	39,9±6,18	36,4±3,50	38,3±6,95
Общ. белок в моче	0,39±0,07	0,39±0,08	0,39±0,06
Креатинин в моче, моль/л	1,09±0,25	0,77±0,072	0,77±0,08
Копропорфирин в моче, нмоль/л	89,15±9,48°	53,3±9,10	69,0±12,10
δ-АЛК в моче, мкмоль/л	5,9±1,07*	8,0±1,34	10,4±1,80
Масса печени, на 100 г.	4,03±0,14*	3,72±0,075	3,60±0,12
Масса почек, на 100 г.	0,63±0,02*	0,65±0,02*	0,40±0,039
Масса селезенки, на 100 г.	0,49±0,04*	0,44±0,026	0,38±0,02
Масса гол.мозга, на 100 г.	0,76±0,039	0,74±0,023	0,75±0,02

Примечание: различия статистически значимы (P < 0.05 по t Стьюденту):

* — в сравнении с контролем; ° — в сравнении с МЧ.

Таблица 14 — Некоторые морфометрические характеристики печени крыс, подвергавшихся субхронической заправке медьсодержащими частицами ($X \pm S_x$)

Группы, получавшие	Число безъядерных гепатоцитов на 100 клеток	Число двуядерных гепатоцитов на 100 клеток	Число клеток Купфера на 100 клеток
НЧ	6,88±0,5°	13,2±0,78*	54,06±1,80*°
МЧ	8,75± 0,80	15,19±1,10	49,19±1,30*
Воду	8,08±0,55	16,50±1,20	42,79±1,60

Примечание: различия статистически значимы ($P < 0.05$ по t Стьюдента):

* — в сравнении с контролем; ° — в сравнении с МЧ.

Таблица 15 — Некоторые морфометрические характеристики почек крыс, подвергавшихся субхронической заправке медьсодержащими частицами ($X \pm S_x$)

Группы	Площадь по внутренней поверхности капсулы, мкм ²	Площадь клубочка, мкм ²	Площадь мочевого пространства, мкм ²	Длина участка десквамации щеточной каемки, %	Длина участка десквамации эпителия, %
НЧ	4547,6±78,37	3331,5±59,80	1216,1±31,48*	8,36±0,76*	1,16±0,38*
МЧ	4672,9±101,24*	3484,1±78,86	1188,9±37,56*	7,97±0,85*	1,18±0,41*
Воду	4368,6±88,72	3395,9±81,71	972,6±60,23	5,39±0,42	0,33±0,13

Примечание: различия статистически значимы ($P < 0.05$ по t Стьюдента):

* — в сравнении с контролем.

Результаты гистологических исследований органов подопытных животных указывают на существенно больший токсический потенциал наночастиц.

В печени по действию наночастиц меди выявлены рост количества клеток Купфера, снижение активности деления гепатоцитов (Таблица 14).

В головном мозге крыс обнаружено нарушение нормальной структуры нейронов (зернистость ядра, смещение ядрышка на периферию или его отсутствие) на уровне базальных ядер. Отмечается гиперхромия, ядрышко пикнотично, отсутствие ядрышек мы расцениваем как признаки апоптоза. Так, в исследованных препаратах головного мозга количество безъядрышковых клеток на 100 клеток Гольджи типа II составило 24, у крыс, получавших НЧ, — 63.

При исследовании макроструктур в головном мозге крыс отмечается демиелинизация миелиновой оболочки, НЧ обнаруживаются в форме мелких электроноплотных гранул, расположенных внутри волокна, между отдельных слоёв миелиновой оболочки. Вид поврежденного нервного волокна представлен на рисунке 18.

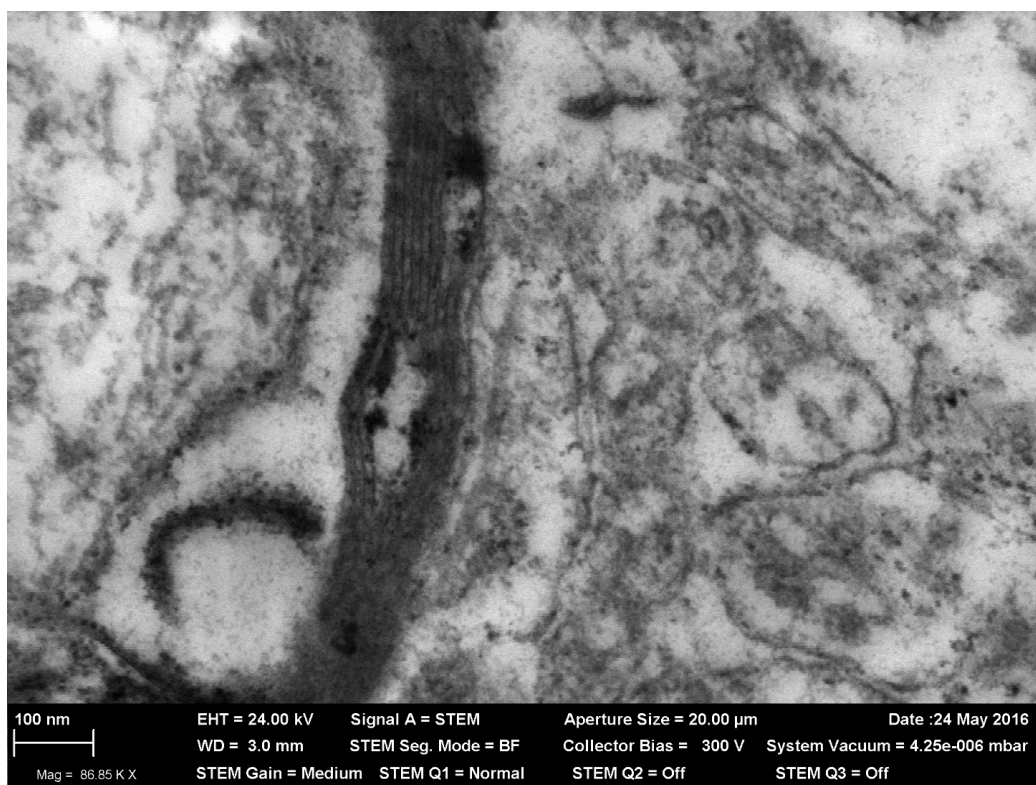


Рисунок 18 — Участок повреждения нервного волокна

Вышесказанное подтверждает данные о способности наночастиц мигрировать вдоль нервных волокон, тем самым формируя характерный только для ультрадисперсных частиц способ повреждения нервной ткани, сочетающий как механический способ воздействия, так и возможность реализации токсических эффектов непосредственно в тканях и органах-мишенях.

Учитывая имеющиеся в литературе данные о возможности поражения структур головного мозга в результате накопления металлов в виде наночастиц в органеллах клеток [110;137; 258], необходимо дальнейшее изучение роли влияния ультрадисперсных частиц и путей их поступления в головной мозг на центральную нервную систему.

Дополнительным компонентом, определяющим возможные риски воздействия на популяцию, является рост экспозиции населения к респираторной фракции пыли с размерностью PM10 и PM2.5.

В целом, полученные результаты, рассматриваемые в совокупности с литературными данными, позволяют заключить, что исследованные меднооксидные наночастицы более цитотоксичны, чем субмикронные, измеряемые десятками долями микрометра (вероятнее всего, в связи с меньшей долей Cu_2O в составе последних и потому меньшей растворимостью). Хотя при субхроническом воздействии малых доз частиц различия интенсивности их токсического действия на отдельные органы и системы отчасти стираются в связи с отмеченными выше различиями накопления в них меди, однако те различия, которые удалось обнаружить, свидетельствуют о более высокой органно-системной токсичности НЧ.

5.2 Результаты обследования работников металлургического производства

Принимая во внимание полученные результаты оценки состава аэрозолей конденсации пирометаллургического передела меди, возникла необходимость оценки возможного негативного влияния наночастиц меди на работающих.

В ходе изучения условий труда и анализа состава аэрозоля на предприятии по переработке были получены 3 варианта воздействия медьсодержащих аэрозолей:

- 1) цех медных порошков характеризуется работой с порошками чистой меди, аэрозолями дезинтеграции микрометрового диапазона;
- 2) цех розлива меди характеризуется плавкой черной меди, аэрозолями конденсации с высоким содержанием наночастиц меди с примесями серы, мышьяка, цинка и свинца;

3) цех медной катанки характеризуется плавкой чистой меди, аэрозолями конденсации с высоким содержанием наночастиц меди без существенных примесей.

Соответственно можно предположить, что в цехе медной катанки возможно получить доказательства негативного воздействия наночастиц меди и какие-либо существенные отличия от воздействия макроформ аэрозоля меди на организм работающих.

Учитывая критерии выборки, по результатам проведенного собеседования и разъяснения цели и формата проведения исследования работникам были розданы анкеты. Всего было сформировано 3 группы по 20 человек, занятых на плавке черновой меди в медеплавильном цехе, на работе в цехе медных порошков, в производстве медной катанки. Непрерывный стаж в профессии — более 10 лет.

В ходе проведения функциональных методов в объеме заявленного стандарта патологических изменений не выявлено.

По результатам изучения биохимических показателей и возможных маркеров воздействия наночастиц меди на здоровье работников установлено, что среди лиц, прошедших обследование, статистически значимое изменение в биохимических показателях — прямая сильная зависимость нарастания уровня церулоплазмينا в крови при повышении содержания наночастиц в воздухе рабочей зоны ($r = 0.971$). Церулоплазмин, как основной специфический транспортный белок для меди в организме, активно участвует в процессе захвата и переноса ионов меди.

Выявленная закономерность может быть объяснена высокой скоростью растворения наночастиц в силу большей, по сравнению с более крупными частицами, площадью поверхности этих частиц. Изменение остальных биохимических показателей в объёме проведённых исследований не показало статистически значимых изменений между группами, несмотря на сильные прямые корреляционные связи между содержанием наночастиц в воздухе рабочей зоны и уровнями биохимических показателей (Таблица 16).

Таблица 16 — Результаты биохимических исследований работников

Показатель	референтное значение	Группы исследования			p1	p2	p3
		Группа 1, Среднее (M±m) Медеплавильный цех	Группа 2, Среднее (M±m) Цех медных порошков	Группа 3, Среднее (M±m) Производство медной катанки			
Медь в крови	10,99-21,98 мкмоль/л	15,2875±0,462	14,08±0,638	15,37±0,691	0,76	0,41	0,345
Медь в моче	2 - 80 мкг/л	16,58125±1,329	14,088±1,1	14,86±1,452	0,6	0,509	0,879
Церулоплазмин	200 - 600 мг/л.	209,85±11,714	168,82±18,77	301,37±28,7	0,024	0,049	0,018
Щелочная фосфатаза	40 - 130, Ед/л	78,725±3,95	77,6±4,827	59,03±8,617	0,11	0,442	0,429
Белок Общий крови	65-85, г/л	70,0125±1,025	70,38±0,986	68,43±1,77	0,255	0,846	0,232
Креатинин сыворотки	62 - 106 мкмоль/л	81,8625±2,948	80,34±5,031	75,40±3,103	0,149	0,668	0,713
Креатинфосфокиназа	< 190 Ед/л	97,05±4,25	98,78±5168	104,04±3,16	0,191	0,734	0,615
Белок S100	< 105 нг/л	77,01525±15,45	84,022±6,461	48,04±14,096	0,088	0,508	0,105
Нейронспецифическая энолаза	0 - 16,3 нг/мл	3,818125±0,867	4,828±2,072	2,04±0,44	0,147	0,45	0,284
Микроальбумин в моче	0 - 30 мг/сут	5,5475±0,602	5,66±0,466	5,13±0,235	0,525	0,843	0,122

Примечание: достоверность различий p1 — между группами 1 и 3; p2 — между группами 1 и 2; p3 — между группами 2 и 3.

Результаты исследований указывают на наличие отдельных показателей, свидетельствующих о существующем риске причинения вреда здоровью лицам, непосредственно связанным с воздействием НЧ.

5.3 Предложения по нормированию наночастиц

В эксперименте на лабораторных животных показана более высокая токсичность наночастиц по сравнению с микрочастицами меди, выраженная в изменении состояния организма: снижении уровня гемоглобина, повышении количества ретикулоцитов; снижении активности СДГ и МДА в крови, повышении копропорфирина в моче. В исследованных препаратах печени под воздействием наночастиц выявлено более существенное, чем для микрочастиц, угнетение деления гепатоцитов и повышение числа тканевых макрофагов.

Учитывая полученные данные о повреждении под воздействием наночастиц меди структуры нейронов и повреждении генетического аппарата клеток, а именно, статистически значимое увеличение количества безъядрышковых клеток, что также соответствует имеющимся литературным данным Хи и соавт. (2012), которые показали в экспериментах *in vitro*, что наночастицы CuO вызывают оксидативный стресс, приводящий к апоптозу этих клеток, авторы также подтверждают существенно больший токсический потенциал медьсодержащих наночастиц [224]. Можно говорить о более высокой токсичности наночастиц по сравнению с микрочастицами.

Исходя из этих данных, необходимо придерживаться сложившейся парадигмы об ужесточении действующих гигиенических нормативов в отношении НЧ в составе аэрозолей воздуха рабочей зоны и атмосферного воздуха.

Установление фактических количественных значений, показывающих опасность наночастиц по сравнению с частицами микрометрового диапазона, связано с невозможностью однозначно определить, какой именно эффект с уменьшением размера частицы для разных веществ повышает токсичность. По этой причине в международной практике при установлении нормативов для

наночастиц используются коэффициенты пересчета относительно микрочастиц, снижающие используемые нормативы не менее чем на порядок.

Основой такого подхода, в том числе ранее использованного в работах ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора», для обоснования величины ОБУВ наноматериалов наномагнетита (Katsnelson et al., 2012) служит экспериментально доказанный факт более высокой токсичности наночастиц по сравнению с их микроразмерными аналогами. Несмотря на то, что обсуждение и разработка критериев безопасности для наноматериалов с целью нормирования продолжается уже достаточно давно [287], общепринятые критерии до сих пор не разработаны. Созданные гигиенические нормативы для воздуха рабочей зоны в отношении синтетических наноматериалов в воздухе рабочей зоны и соответствующие рекомендации по управлению сопутствующими профессиональными рисками сопровождаются оговорками о высокой неопределённости полученных результатов [218]. В связи с этим специалистам, отвечающим за безопасность персонала, требуется придерживаться «принципа предосторожности». Данный принцип означает необходимость достижения минимально возможного ограничения воздействия наночастиц на работающего на столь низких уровнях, насколько технически это достижимо.

Национальные и корпоративные гигиенические стандарты зарубежных стран, в частности США (группа нормативов Recommended Exposure Limit), устанавливают для наночастиц нормативы в 8 и более раз ниже, чем для его макроформ. Гигиенические нормативы Benchmark Exposure Level, разработанные Австралийским правительственным агентством по безопасности труда для наноматериалов, в 15 раз жёстче в отношении макроформ.

Принимая во внимание указания к установлению коэффициентов запаса в соответствии с «Методическими указаниями к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны», полученные экспериментальные данные и сложившуюся международную практику при нормировании частиц с границей отсечения размеров в 100 нм и использующих коэффициенты запаса ужесточения нормативов на уровне 8–10 раз относительно

частиц большей размерности, учитывая генотоксичность медьсодержащих наночастиц, предлагается 10-кратный понижающий коэффициент для перехода от среднесменной ПДК к ОБУВ, что даёт величину 0,05 мг/м³.

Резюме

1. В серии сравнительно-экспериментальных токсикологических исследований на животных показано, что при воздействии НЧ меди наблюдаются нарушения параметров крови, торможение общего уровня окислительно-восстановительного метаболизма, а также подавление перекисного окисления липидов. Исходя из этого, можно говорить о более высокой токсичности наночастиц по сравнению с микрочастицами.

2. Обнаружено, что частицы меди различной размерности обладают цитотоксическими эффектами и способны повреждать нейроны на уровне отдельных структур головного мозга.

3. В условиях воздействия аэрозолей меди с повышением доли наночастиц меди в общей массе аэрозоля у работников основных профессий металлургического производства отмечается достоверное нарастание концентрации церулоплазмينا в крови, при этом основное значение имеет содержание соединений меди в виде наночастиц, а не общая ее концентрация в воздухе рабочей зоны.

4. С учетом полученных данных и на основании существующей международной практики предлагается установить среднесменный ОБУВ 0,05 мг/м³ для медно-меднооксидных аэрозолей конденсации, состоящих преимущественно из субмикронных частиц (включая частицы нанометрового диапазона).

5. При увеличении экспозиции организма к наночастицам меди в виде аэрозоля наблюдаются эффекты, которые могут свидетельствовать об изменении биокинетики меди в организме и возможных негативных эффектах, что требует дополнительного изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ указывает на отсутствие объективных данных о воздействии наночастиц в условиях существующих промышленных предприятий, чья деятельность непосредственно не связана с целенаправленным получением наноматериалов. При этом не вызывают сомнения более высокие потенциальные риски воздействия наночастиц для здоровья человека по сравнению с частицами большей размерности. Учитывая широкое распространение цветной металлургии в целом и производства меди в частности как вида экономической деятельности, в котором занято существенное количество трудоспособного населения, изучение влияния наночастиц на здоровье работающих в качестве фактора производственной среды имеет важное прикладное значение. Практически во всех исследованиях наночастиц отмечается недостаточное количество данных по результатам исследований влияния наночастиц меди *in vivo* и недостаточная изученность механизмов действия этих частиц на организм в целом.

Изучение состава аэрозолей на предприятии по переработке медьсодержащего сырья показало присутствие в составе воздуха рабочей зоны при основных технологических процессах наличие существенного количества наночастиц. Наибольшая массовая доля частиц в аэрозоле конденсации пирометаллургического предела меди представлена частицами нанометрового диапазона. Дисперсный состав частиц представлен преобладающей фракцией 50–150 нм. При этом обращает внимание практически полное отсутствие наночастиц меди при реализации процессов, связанных с аэрозолями дезинтеграции.

Учитывая необходимость разработки и внедрения методик, идентификации, обора и определения количественных параметров наночастиц в воздухе рабочей зоны, наиболее перспективными себя показали аппаратные классификаторы частиц (спектрометры) на основе лазерной нефелометрии и дифференциальные анализаторы подвижности частиц. Качественный анализ частиц в составе аэрозоля рационально проводить с использованием атомно-силовой микроскопии.

Проведенное токсикологическое исследование *in vivo* с наночастицами меди показало различия воздействия наночастиц и микрочастиц меди. При воздействии

наночастиц выявлены неблагоприятные сдвиги со стороны показателей крови (снижение содержания гемоглобина и числа эритроцитов и порфиринового обмена); торможение общего уровня окислительно-восстановительного метаболизма, а также подавление перекисного окисления липидов. В головном мозге обнаружены патологические изменения нейронов ганглиозного слоя коры и базальных ядер. Исходя из этого, можно говорить о более высокой токсичности наночастиц по сравнению с микрочастицами. Обнаруженные различия эффектов воздействия во многом объясняются разницей растворимости наночастиц и микрочастиц.

Оценка состояния здоровья работников основных профессий металлургического производства, подвергающихся непосредственному воздействию наночастиц меди, указывает на изменение отдельных биохимических показателей, из которых наибольшее значение имеет нарастание концентрации церулоплазмينا в крови, что может использоваться в качестве маркера воздействия наночастиц. При этом основное значение имеет содержание соединений меди в виде наночастиц, а не общая концентрация меди в воздухе рабочей зоны.

Полученные в ходе проведенных исследований данные оценки эффектов воздействия наночастиц по сравнению с микрочастицами подтверждают необходимость изменения подходов к нормированию аэрозолей.

Принимая во внимание указания к установлению коэффициентов запаса в соответствии с «Методическими указаниями к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны», полученные экспериментальные данные и сложившуюся международную практику при нормировании частиц с границей отсечения размеров в 100 нм и использующих коэффициенты запаса ужесточения нормативов на уровне 8–10 раз относительно частиц большей размерности, учитывая генотоксичность медьсодержащих наночастиц, предлагается 10-кратный понижающий коэффициент для перехода от среднесменной ПДК к ОБУВ.

По результатам проведённой работы нами предлагается среднесменный ОБУВ $0,05 \text{ мг/м}^3$ для медно-меднооксидных аэрозолей конденсации (включая частицы нанометрового диапазона).

ВЫВОДЫ

1. Условия труда на обследованных рабочих местах при плавке меди характеризуются как вредные. Наибольшая массовая доля частиц (до 50 % от общей массы аэрозоля конденсации при плавке меди) представлена частицами нанометрового диапазона и их агрегатами. Дисперсный состав частиц представлен преобладающей фракцией 50–150 нм. Аэрозоли дезинтеграции состоят из частиц микрометрового диапазона. Химический состав частиц аэрозоля соответствует составу используемого сырья: при плавке черновой меди отмечается существенная неоднородность химического состава отдельных частиц; при плавке чистой меди частицы состоят из чистой меди с окисловым покрытием ядра.

2. Использование аппаратных классификаторов частиц (спектрометров) на основе лазерной нефелометрии и дифференциальных анализаторов подвижности позволяет получить достоверную оценку распределения размеров частиц в воздухе рабочей зоны. Качественный анализ частиц в составе аэрозоля рационально проводить с использованием атомно-силовой микроскопии.

3. Результаты оценки токсичности частиц меди показали различия воздействия наночастиц и микрочастиц меди. В эксперименте на лабораторных животных при воздействии наночастиц по сравнению с микрочастицами меди выявлено снижение уровня гемоглобина, повышение количества ретикулоцитов; снижение активности СДГ и МДА в крови, повышение экскреции копропорфирина в моче, рост количества клеток Купфера и замедление репаративной активности гепатоцитов. В головном мозге выявлено поражение структуры нейронов базальных ядер и увеличение количества безъядрышковых клеток Гольджи II типа. Исходя из этого, можно говорить о более высокой токсичности наночастиц по сравнению с микрочастицами.

4. В условиях воздействия аэрозолей меди с повышением доли наночастиц меди в общей массе аэрозоля у работников основных профессий металлургического производства отмечается достоверно нарастание концентрации церулоплазмينا в крови, что может использоваться в качестве маркера воздействия

наночастиц. При этом основное значение имеет содержание соединений меди в виде наночастиц, а не общая концентрация меди в воздухе рабочей зоны.

5. Оценка эффектов воздействия наночастиц по сравнению с микрочастицами подтверждает необходимость изменения подходов к нормированию аэрозолей: требуется внесение изменений в правила утверждения гигиенических нормативов (показателей ОБУВ и ПДК для аэрозолей) в зависимости от дисперсного состава частиц в аэрозоле. Исходя из полученных в ходе исследования данных, нами предлагается среднесменный ОБУВ 0,05 мг/м³ для медно-меднооксидных аэрозолей конденсации (включая частицы нанометрового диапазона).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для проведения отбора проб аэрозолей на предмет дисперсного анализа содержания наночастиц в условиях существующих технологических процессов реального сектора экономики рационально применение активного отбора проб на существующем оборудовании на скоростях, соответствующих скорости дыхания человека от 0,5–2 л/мин., с учётом механических свойств выбранных фильтров. Для полного захвата всех частиц аэрозоля, в том числе наночастиц, на данных скоростях достаточно применение волокнистых фильтров АФА-ВП, «проскок» частиц через данные фильтры при проведении исследования не зафиксирован.

2. При электронной микроскопии для первичного качественного и количественного анализа наночастиц в составе аэрозоля оптимальным вариантом является использование калиброванных мембран с правильной геометрией ячеек, гладкой поверхностью, по возможности не требующих использование растворителей для их просветления. Исходя из заявленных требований, для указанных целей могут применяться как трековые мембраны на основе органических соединений, например поликарбоната, так и мембраны на основе неорганических соединений, например глинозёма.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Проведенная работа и апробация подходов к отбору и анализу аэрозолей в условиях действующих производств могут быть использованы для разработки методик качественного и количественного анализа дисперсометрических и гигиенических параметров аэрозолей с целью организации производственного контроля.

Дальнейшее продолжение токсиколого-гигиенических исследований, включая изучение отдаленных эффектов, может использоваться для обоснования предельно допустимых концентраций для медно-меднооксидных аэрозолей конденсации в воздухе производственных помещений и атмосферном воздухе населенных мест.

Дальнейшее изучение механизмов токсикодинамики и токсикокинетики медьсодержащих наночастиц может способствовать выявлению особенностей действия наночастиц в части активации механизмов оксидантного стресса, возможной роли в индукции апоптоза клеток и влияния наночастиц на нервную систему.

Полученные данные о возможном использовании церулоплазмينا в качестве маркера воздействия медьсодержащих наночастиц могут быть использованы с целью выявления групп риска для рабочих и населения, экспонируемых к медьсодержащим наночастицам.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АМ	– альвеолярные макрофаги
А/Г	– альбумин-глобулиновый индекс
ААС	– атомно-абсорбционная спектроскопия
АЛК	– дельта аминолевулиновая кислота
АлТ	– аланин- аминотрансфераза
АсТ	– аспартат-аминотрансфераза
АЭС	– атомно-эмиссионная спектроскопия
БАД	– биологически активная добавка
БАЛЖ	– жидкость бронхоальвеолярный лаваж
БПК	– биопротилактический комплекс
в/б	– внутрлбрюшинное
ВОЗ	– Всемирная организация здравоохранения
ГГТП	– гамма-глутамилтрансфераза
ГЭБ	– гематоэнцефалический барьер
и/т	– интратрахеальное
Кфр	– коэффициент фрагментации
ЛД50	– среднесмертельная доза
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа
МДА	– малоновый диальдегид
МЧ	– микрочастицы
НЛ	– нейтрофильные лейкоциты
НЧ	– наночастицы
ОБУВ	– ориентировочно безопасный уровень воздействия
ПДАФ	– полиморфизм длин амплифицированных фрагментов ДНК
ПДК	– предельно допустимые концентрации
ПМК	– производство медной катанки
ПЭМ	– просвечивающая электронная микроскопия
ПЭС	– полиэфирсульфон

СДГ	– сукцинатдегидрогеназа
СПП	– суммационно-пороговый показатель
СЭМ	– сканирующая электронная микроскопия
ЭПР	– электронный парамагнитный резонанс
ЦМП	– цех медных порошков

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания». – Текст : электронный.

2. МР 1.2.0037-11. Контроль наноматериалов в воздухе. Утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 17 октября 2011 г. – Текст : электронный.

3. МР 1.2.2639-10. Использование методов количественного определения наноматериалов на предприятиях наноиндустрии. Утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 24 мая 2010 г. – Текст : электронный.

4. МУ 1.2.2520-09. Токсиколого-гигиеническая оценка безопасности наноматериалов. Утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 5 Июня 2009 г. – Текст : электронный.

5. МР 1.2.0024-11 Контроль наноматериалов, применяемых в химической промышленности. Утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 17 Июня 2011 г. – Текст : электронный.

6. МР 1.2.2566-09 Оценка безопасности наноматериалов *in vitro* и в модельных системах *in vivo*. Утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 10

Декабря 2009 г. – Текст : электронный.

7. МУ 1.2.2636-10. Проведение санитарно-эпидемиологической экспертизы продукции, полученной с использованием нанотехнологий и наноматериалов. Утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 24 мая 2010 г. – Текст : электронный.

8. МУК 4.1.2468-09. Измерение массовых концентраций пыли в воздухе рабочей зоны предприятий горнорудной и нерудной промышленности. Утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 2 февраля 2009 г. – Текст : электронный.

9. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 23 июля 2007 года N 54 «О надзоре за продукцией, полученной с использованием нанотехнологий и содержащей наноматериалы». – Текст : электронный.

10. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 31 октября 2007 года N 79 «Об утверждении Концепции токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов». – Текст : электронный.

11. СП 2.2.3670-20 «Санитарно-эпидемиологические требования к условиям труда». – Текст : электронный.

12. Федеральный закон от 26 июня 2008 года N 102-ФЗ «Об обеспечении единства измерений». – Текст : электронный.

13. Федеральный закон от 27 декабря 2002 года N 184-ФЗ «О техническом регулировании». – Текст : электронный.

14. Федеральный закон от 30 марта 1999 года N 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения». – Текст : электронный.

15. Бестужева, С. В. Определение церулоплазмينا в сыворотке крови модифицированным методом Ревина // Клиническая биохимия / С. В. Бестужева, В. Г. Колб. – Минск : Беларусь, 1976. – С. 219-220.
16. Биологическая профилактика как комплексное воздействие, повышающее резистентность организма к действию вредных факторов производственной среды / Б. А. Кацнельсон, Т. Д. Дегтярёва, Л. И. Привалова [и др.] // Вестник Уральской медицинской академии наук. – 2005. – №2. – С. 70-76.
17. Биохимические эффекты у рабочих, подвергающихся влиянию аэрозолей металлургического производства меди, содержащих наночастицы / В. Б. Гурвич, Б. А. Кацнельсон, В. О. Рузаков [и др.] // Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути ее снижения : Матер. междунар. конф. 20-21 октября 2016 г. – Екатеринбург, 2016. – С. 21-23.
18. Владимиров, Ю. А. Перекисное окисление липидов в биомембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Наука, 2003. – С. 230-272.
19. Воздух рабочей зоны. Ультрадисперсные аэрозоли, аэрозоли наночастиц и наноструктурированных частиц. Определение характеристик и оценка воздействия при вдыхании : ГОСТ Р 54597-2011/ISO/TR 27628: 2007.
20. Волков, М. С. Глутаминовая кислота: Биохимическое обоснование практического использования / М. С. Волков, А. М. Генкин, Н. А. Глоток. – Свердловск, 1975. – 119 с.
21. Вредные вещества в окружающей среде / Под общ. ред. В. А. Филова. – СПб. : НПО «Профессионал», 2005. – 461 с.
22. Вредные вещества в промышленности. Том 1-3 / Под ред. Н. В. Лазарева, Э.Н. Левиной. – Л. : Химия, 1977. – С. 332-335.
23. Елизарова, О. Н. Пособие по токсикологии для лаборантов / Сост. О. Н. Елизарова, Л. В. Жидкова, Т. А. Кочеткова. – М. : Медицина, 1974. – 77 с.
24. Зенков, Н. К. Окислительный стресс / Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньщикова. – М. : Наука, 2004. – 343 с.
25. Избирательная цитотоксичность наночастиц марганца в отношении

клеток глиобластом человека / И. А. Разумов, Е. Л. Завьялов, С. Ю. Троицкий [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2017. – № 2. – С. 114-118.

26. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных / О. А. Богословская, Е. А. Сизова, В. С. Полякова [и др.] // Вестник ОГУ. – 2009. – № 2. – 124-127.

27. Использование клеточных систем «ин витро» и «ин vivo» для ускорения гигиенической регламентации малорастворимых промышленных аэрозолей: МР № 01-19/24-17.

28. Испытание защитной эффективности биопрофилактического комплекса по отношению к вредному действию хризотил-асбеста в эксперименте / Л. И. Привалова, М. П. Сутункова, Б. А. Кацнельсон [и др.] // 3-й съезд токсикологов России : Тез. докл. – М., 2008. – С. 218-219.

29. Исследование пероральной токсичности одностенных углеродных нанотрубок / В. А. Шипелин, А. А. Шумакова, И. В. Гмошинский, С. А. Хотимченко // Вопросы питания. – 2018. – Т. 87 (S5). – С. 203-204.

30. Кацнельсон, Б. А. Принципы биологической профилактики профессиональной и экологически обусловленной патологии от воздействия неорганических веществ / Б. А. Кацнельсон Т. Д., Дегтярева, Л. И. Привалова. – Екатеринбург, 1999. – 106 с.

31. Кацнельсон, Б. А. Разработка средств, повышающих устойчивость организма к действию неорганических загрязнителей производственной и окружающей среде / Б. А. Кацнельсон, Т. Д. Дегтярёва, Л. И. Привалова // Российский химический журнал. – 2004. – Т.18 (2). – С. 65-71.

32. Ковалева, Н. Ю. Проблемы безопасности наноматериалов: нанобезопасность, нанотоксикология, наноинформатика химическая безопасность / Н. Ю. Ковалева, Е. Г. Раевская, А. В. Рощин. – 2017. – Т.1 (2). – С. 44-87.

33. Комплексная медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов: информационно-аналитическая и экспериментальная

составляющие / В. А. Тутельян, С. А. Хотимченко, И. В. Гмошинский [и др.] // Здоровье населения и среда обитания. – 2011. – № 5 (218). – С. 15-18.

34. Котеров, А. Н. Радиоадаптивный ответ *in vitro* нестимулированных лимфоцитов крыс по металлотионеиновому тесту / А. Н. Котеров, И. В. Филлипович // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1995. – Т. 35 (2). – С. 162-180.

35. Леоненко, Н. С. Сравнительный анализ токсичности и опасности химических соединений различной размерности (обзор литературы) / Н. С. Леоненко // Украинский журнал современных проблем токсикологии. – 2016. – № 2. – С. 48-61.

36. Меньшиков, В. В. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотниицкая. – М. : Медицина, 1987. – 368 с.

37. Меньщикова, Е. Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков. – М. : «Слово», 2006. – 553 с.

47. Методические рекомендации по использованию клеточных систем «инвитро» и «ин виво» для ускорения гигиенической регламентации малорастворимых промышленных аэрозолей: МР № 01-19/24-17. – Екатеринбург, 1995. – 28 с.

48. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования. – Кишинев, 1980. – 47 с.

49. Методические указания к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны № 2163-80. Утв. Гл. госуд. сан. врачом СССР 4 апреля 1980 г. – М., 1980.

50. Методические указания по установлению ориентировочных безопасных уровней воздействия вредных веществ в воздухе рабочей зоны: МУ № 4000-85. -М., 1985.

51. Минигалиева, И. А. Экспериментальное обоснование подходов к

биологической профилактике вредных эффектов органических загрязнителей среды обитания и их комбинаций с токсичными металлами / Минигалиева Ильзира Амировна : дисс. ... канд. биол. наук. – Мытищи, 2009. – 181 с.

52. Мирогов, Ю. В. Влияние перидоксина, рибофлавина, калия оротата, фолиевой и глутаминовой кислоты на восстановление работоспособности у неполовозрелых крыс / Ю. В. Мирогов, В. С. Яснецов // Фармакология и токсикология. – 1985. – № 4. – С. 110-112.

53. Могилевская, О. Я. Токсикология редких металлов / О. Я. Могилевская. – М., 1963. – С. 151-164.

54. Морозова, К. И. Влияние некоторых органических кислот на стабилизацию мембран митохондрий при воздействии кварцевой пыли / К. И. Морозова // Профессиональные болезни пылевой этиологии : Сб. науч. тр. – М., 1988. – Т.1. – С. 62-68.

55. Морозова, К. И. Экспериментальное обоснование дозировки и схемы применения глутаминовой кислоты в целях биологической профилактики и терапии силикоза / К. И. Морозова // Профессиональные болезни пылевой этиологии : Сб. науч. тр. – М., 1986. – С. 42-47.

56. Морфологические изменения во внутренних органах лабораторных животных при однократном введении наночастиц Fe / Н. А. Наволокин, О. В. Матвеева, Г. Н. Маслякова [и др.] // Известия Саратовского университета. – 2011. – Т. 11 (2). – С. 63-66.

57. Морфологические особенности органов желудочно-кишечного тракта при субхроническом воздействии нанодисперсного оксида марганца (III, IV) / М. А. Землянова, В. Н. Звездин, А. А. Довбыш, Н. Б. Кондрашова // Анализ риска здоровью. – 2013. – № 3. – С. 55-63.

58. Наноразмерные соединения и перспективы ускоренного определения их цитотоксических свойств с целью гигиенического нормирования / Е. А. Сопова, О. А. Ганковская, В. И. Баранов [и др.] // Здоровье населения и среда обитания. – 2010. – № 2. – С. 41-44.

59. Новые данные к оценке силикозоопасности промышленных аэрозолей

на основе коллоидного раствора кремниевой кислоты / Г. А. Подгайко, Б. А. Кацнельсон, М. Ф. Лемясев [и др.] // Профессиональные болезни пылевой этиологии: сб. науч. тр. – М. : НИИГ им. Эрисмана, 1982. – С. 93-100.

60. Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации: МР 2.3.1.2432-08. – М., 2008.

61. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания / Е. Б. Меньщикова, Н. К. Зенков, В. З. Ланкин [и др.]. – Новосибирск : АРТА, 2008. – 284 с.

62. Онищенко, Г. Г. О мерах по обеспечению безопасности окружающей среды и здоровья населения при разработке и внедрении нанотехнологий и наноматериалов / Г. Г. Онищенко // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2011. – № 3. – С. 28-31.

63. Определение частиц нанодиапазона в воздухе рабочей зоны металлургического производства / Т. С. Уланова, М. В. Антипьева, М. И. Забирова, М. В. Волкова // Анализ риска здоровью. – 2015. – № 1. – С. 77-81.

64. Ориентировочные гигиенические нормативы аэрозолей наночастиц в воздухе рабочей зоны и упреждающая оценка риска / А. С. Радилов, А. В. Глушкова, С. А. Дулов, В. Р. Рембовский // Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути ее снижения : Матер. междунар. конф., 20-21 октября 2016 г., Екатеринбург. – Екатеринбург, 2016. – С. 58-51.

65. Особенности функциональной морфологии клеток на отпечатках органов, пленочных препаратах соединительной ткани и мазках крови / Г. Г. Кругликов, В. Б. Суслов, Л. М. Лихачева [и др.] // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2014. – № 4. – С. 86-92.

66. Оценка острой ингаляционной токсичности аэрозоля нанодисперсного оксида марганца для задач гигиенического нормирования. Нанотоксикология: достижения, проблемы и перспективы / М. А. Землянова, Н. В. Зайцева, В. Н. Звездин, Т. И. Акафьева // Матер. науч.-практ. конф. – Волгоград,

2014. – С. 44-46.

67. Оценка потенциальной опасности наноразмерного оксида никеля / Н. В. Зайцева, М. А. Землянова, Т. И. Акафьева, В. Н. Звездин // Экология труда. Экология человека. – 2016. – № 10. – С. 10-16.

68. Павловская, Н. А. Поведение свинца в организме человека и особенности ранней диагностики свинцовых интоксикаций / Н. А. Павловская, В. А. Кирьяков, А. В. Погабало. – М. : Лад, 1998. – 101 с.

69. Пневмокониозы: патогенез и биологическая профилактика / Б. А. Кацнельсон, Л. И. Привалова, О. Г. Алексеева, Е. В. Ползик. – Екатеринбург : УрО РАН, 1995. – 325 с.

70. Потапов, А. И. Международные стандарты безопасности при профессиональном воздействии наночастиц и гармонизация гигиенических стандартов / А. И. Потапов, А. В. Тулакин, Л. А. Луценко [и др.] // Здоровье населения и среда обитания. – 2011. – № 5. – С. 19-21.

71. Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных. - Приложение к приказу Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г.

72. Привалова, Л. И. Гигиенические аспекты неспецифического действия малорастворимых цитотоксических пылевых частиц : дисс. ... д-ра мед. наук / Привалова Лариса Ивановна. – Свердловск : МНЦ ПОЗРПП, 1990. – 389 с.

73. Привалова, Л. И. Гигиеническое значение цитотоксического действия силикозоопасной пыли как фактора, контролирующего защитную реакцию самоочищения легких : дисс. ... канд. мед. наук / Привалова Лариса Ивановна. – Свердловск : НИИ ГТ и ПЗ, 1979. – 211 с.

74. Применение биомаркеров вредного влияния наноразмерных аэрозолей на организм для оценки и прогнозирования риска нарушений здоровья у работников горнодобывающих предприятий / В. П. Чашин, С. А. Горбанев, Д. Эллингсен, И. Томассен // Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути ее снижения : Матер. междуна. конф. 20-21 октября 2016, г. Екатеринбург. – Екатеринбург, 2016. – С. 59-61.

75. Производство и применение наноматериалов (токсиколого-гигиенические проблемы) / Б. Н. Филатов, Л. И. Бочарова, В. В. Клаучек, [и др.] // Фармакология. – 2015. – Т. 16. – С. 259-266.

76. Проценко, Д. А. Система тестов для оценки токсичности наночастиц оксида никеля (II) на культуре фибробластов человека / Д. А. Проценко // Новое слово в науке и практике: гипотезы и апробация результатов исследований. – 2016. – № 23. – С. 18-22.

77. Реакция глубоких дыхательных путей крысы на однократное интратрахеальное введение наночастиц оксидов никеля и марганца или их комбинации и ее ослабление биопротекторной премедикацией / Б. А. Кацнельсон, И. А. Минигалиева, Л. И. Привалова [и др.] // Токсикологический вестник. – 2014. – № 6. – С. 8-14.

78. Роль церулоплазмينا в устойчивости организма к рентгеновскому облучению / Н. К. Бердинских, С. Г. Антоненко, Ю. В. Волосченко [и др.] // Радиобиология. – 1984. – № 24. – С. 199-203.

79. Рыжковский, В. Л. Резорбтивное действие малых концентраций аэрозоля металлического никеля на организм / В. Л. Рыжковский, Е. В. Елфимова, М. И. Гусев // Гигиена и санитария. – 1974. – №11. – С. 8-13.

80. Соловьёва, С. Н. О критериях гигиенической оценки атмосферных концентраций промышленных аэрозолей с высоким содержанием наночастиц аморфного диоксида кремния / С. Н. Соловьёва, М. П. Сутункова, Б. А. Кацнельсон // Гигиена и санитария. – 2017. – Т. 96 (12). – С. 1179-1181.

81. Справочник по клинической фармакологии и фармакотерапии / Под ред. С. С. Чекмана, А. П. Пелешук, О. А. Пятак. – Киев : Здоровья, 1986. – 736 с.

82. Сравнительная и комбинированная токсичность наночастиц оксидов алюминия, титана и кремния и её ослабление комплексом биопротекторов / И. А. Минигалиева, Б. А. Кацнельсон, Л. И. Привалова [и др.] // Токсикологический вестник. – 2018. – Vol. 2. – P. 18-27.

83. Сравнительные подходы к оценке риска и гигиенического регламентирования наноматериалов в России и Евросоюзе (на примере Норвегии)

/ А. В. Глушкова, А. С. Радилов, С. А. Дулов, Н. С. Хлебникова // Токсикологический вестник. – 2016. – № 6. – С. 31-35.

84. Сухаревская, Т. М. Энтеросорбция в профилактике и коррекции экологически обусловленных нарушений здоровья / Т. М. Сухаревская, Л. М. Потеряева, Л. А. Шпагина // Сибирский стандарт жизни: экология, образование, здоровье : Тез. докл. науч. практ. конф. 12 декабря 1997 г. – Новосибирск, 1997. – С. 148-150.

85. Тиньков, М. Н. Пероксидное повреждение белков и липидов сыворотки крови индуцированное солями железа и меди питьевой воды / А. А. Тиньков, М. Н. Рогачева, А. А. Никоноров // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2012. – № 6 (142). – С. 191-194.

86. Токсикологическая оценка наноразмерного коллоидного серебра, стабилизированного поливинилпирролидоном, в 92-дневном эксперименте на крысах. II. Морфология внутренних органов / Н. В. Зайцева, М. А. Землянова, В. Н. Звездин [и др.] // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85 (1). – С. 47-55.

87. Токсикологическая оценка наноразмерного коллоидного серебра, стабилизированного поливинилпирролидоном. III. Энзимологические, биохимические маркеры, состояние системы антиоксидантной защиты / И. В. Гмошинский, В. А. Шипелин, И. В. Ворожко [и др.] // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85 (2). – С. 14-23.

88. Токсиколого-гигиеническая оценка безопасности нано- и микродисперсного оксида марганца (III, IV) / Н. В. Зайцева, М. А. Землянова, В. Н. Звездин [и др.] // Вопросы питания. – 2012. – Т. 81 (5). – С. 13-19.

89. Трахтенберг, И. М. Пектины в индивидуальной профилактике хронических свинцовых интоксикаций / И. М. Трахтенберг, Е. Краснюк, И. Лубянова // Токсикологический вестник. – 1998. – № 4. – С. 32-36.

90. Трахтенберг, И. М. Профилактическое применение пектина при хроническом воздействии свинца на производстве / И. М. Трахтенберг, В. П. Луковенко, Т. К. Короленко // На допомогу практичному лжаревк : Сб. науч. тр. – Киев, 1995. – С. 132-136.

91. Участие полинуклеаров в альвеолярном фагоцитозе кварцевой пыли и его связь с биологической агрессивностью кварца / С. К. Старикова, Б. А. Кацнельсон, Г. В. Аронова, И. М. Шнайман // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1970. – № 9. – С. 113-116.

92. Фатхутдинова, Л. М. Токсичность искусственных наночастиц / Л. М. Фатхутдинова, Т. О. Халиуллин, Р. Р. Залялов // Казанский медицинский журнал. – 2009. - Т. 90 (4). – С. 578-584.

93. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский, Ю. А. Ким, Б. С. Абдрасилов, Е. Н. Музафаров. – Пушино : Synchrobook, 2013. – 310 с.

94. Хамидулина, Х. Х. Международные подходы к оценке токсичности и опасности наночастиц и наноматериалов / Х. Х. Хамидулина, Ю. О. Давыдова // Токсикологический вестник. – 2011. – №6. – С. 53-57.

95. Хлебцов, Н. Г. Биораспределение и токсичность золотых наночастиц / Н. Г. Хлебцов, Л. А. Дыкман // Российские нанотехнологии. – 2011. – Т.6 (1-2). – С. 39-59.

96. Эколого-эпидемиологический анализ связи здоровья населения промышленных городов Среднего Урала с воздействием вредных факторов среды обитания (по материалам исследований, проводившихся в 1998-2008 гг.) / Л. И. Привалова, Б. А. Кацнельсон, С. В. Кузьмин [и др.] // Охрана здоровья населения промышленных регионов: стратегия развития, инновационные подходы и перспективы : Матер. Всеросс. науч.-практ. конф. с междун. участием. – Екатеринбург, 2009. – С. 145-151.

97. Эффективность ольфакторного транспорта наночастиц оксида марганца (II) при однократном или многократном интраназальном введении / А. В. Ромащенко, М. Б. Шарапова, Д. В. Петровский, М. П. Мошкин // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2017. – Т. 21 (3). – С. 304-311.

98. Юрова, А. В. Структурно-функциональная оценка влияния никеля на организм животных и культуру клеток : автореф. дисс. ... канд. биол. наук / Анжелика Вячеславовна Юрова. – М., 1989. – 19 с.

99. A role for surface reactivity in TiO₂ and quartz-related nanoparticle pulmonary toxicity / D. B. Warheit, K. L. Reed, C. M. Sayes [et al.] // *Nanotoxicology*. – 2009. – Vol.3 (3). – P. 181-187.
100. Absence of histologic retinal toxicity of intravitreal nanogold in a rabbit model / S. J. Bakri, J. S. Pulido, P. Mukerjee [et al.] // *Retina*. – 2008. – Vol.28 (1). – P. 147-149.
101. Accumulation and Toxicity of Copper Oxide Engineered Nanoparticles in a Marine Mussel / S. K. Hanna, R. J. Miller, H. S. Lenihan // *Nanomaterials*. – 2014. – Vol 4. – P. 535-547. – Doi:10.3390/nano4030535.
102. Acute and chronic toxicity of nickel oxide nanoparticles to *Daphnia magna*: The influence of algal enrichment / N. Gonga, K. Shaoc, G. Lia, Y. Sun // *NanoImpact*. – 2016. – Vol. 34. – P. 104-109.
103. Acute and subacute toxicity studies of Chitosan reduced gold nanoparticles: a novel carrier for therapeutic agents / V. Pokharkar, S. Dhar, D. Bhumkar, V. Mali [et al.] // *Biomed Nanotechnol*. – 2009. – Vol. 5(3). – P. 233-238.
104. Acute toxicity and genotoxicity of silver nanoparticle in rats / W. Hairuo, M. Dan, Y. Yang [et al.] // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12(9). – P. e0185554.
105. Acute toxicity of nano- and micro-scale zinc powder in healthy adult mice / B. Wang, W.-Y. Feng, T.-C. Wang [et al.] // *Toxicology Letters*. – 2006. – Vol.161(2). – P. 115-123.
106. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo / Z. Chen, H. Meng, G. Xing [et al.] // *Toxicol. Lett*. – 2006. – Vol. 25. – P. 109-120.
107. Adjroud, O. The toxic effects of nickel chloride on liver, erythropoiesis, and development in Wistar albino preimplanted rats can be reversed with selenium pretreatment / O. Adjroud // *Environ. Toxicol*. – 2013. – Vol. 28 (5). – P. 290-298.
108. AFM of bacterial cells subjected to different factors / A. M. Lomonosov, S. N. Egorov, M. O. Gallyamov, I. V. Yaminsky // *Phys. Low-Dim. Struct*. - 2003. - Vol.3-4. - P. 125-130.
109. Ahmadi, F. Investigation on silver retention in different organs and oxidative stress enzymes in male broiler fed diet supplemented with powder of nano

silver / F. Ahmadi, A. H. Kordestany // Amer.-Eurasian J. Toxicol. Sci. – 2011. – Vol. 3 (1). – P. 28-35.

110. A multiparametric study of gold nanoparticles cytotoxicity, internalization and permeability using an in vitro model of blood-brain barrier. Influence of size, shape and capping agent / M. Enea, M. Peixoto de Almeida, P. Eaton [et al.] // Nanotoxicology. – 2019. – Vol.14. – P.1-15.

111. An in vitro study of bare and poly(ethylene glycol)-co-fumarate-coated supermagnetic iron oxide nanoparticles: a new toxicity identification procedure / M. Mahmoudi, A. Simchi, M. Imani [et al.] // Nanotechnology. – 2009. – Vol.20. – P. 1-8.

112. Anolles, G. DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotides / G. Anolles, B. J. Bassam, P. M. Gresshoff // Biotechnology. – 1991. – Vol. 9 (6). – P. 553.

113. Anti-Breast Cancer Potential of Quercetin via the Akt/AMPK/Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) Signaling Cascade /A. R. Rivera, L. Castillo-Pichardo, Y. Gerena [et al.] // PLoS One. – 2016. – Vol. 11 (6).

114. Anticancer and apoptosis-inducing effects of quercetin in vitro and in vivo / M. Hashemzaei, A. D. Far, A. Yari [et al.] // Oncology reports. – 2017. – Vol. 38 (2). – P. 819-828.

115. Antioxidant and hepatoprotective role of selenium against silver nanoparticles / S. Ansar, S. M. Alshehri, M. Abudawood [et al.] // Int. J. Nanomedicine. – 2017. – Vol. 24 (12). – P. 7789-7797.

116. Applications and potential toxicity of magnetic iron oxide nanoparticles / G. Liu, J. Gao, H. Ai, X. Chen // Small. – 2013. – Vol. 9 (9-10). – P. 1533-1545.

117. Appropriate in vitro methods for genotoxicity testing of silver nanoparticles /R. Kim, Y. J. Park, Y. Shin da [et al.] // Environ. healthtoxicology. – 2013. – Vol.28. – e2013003.

118. Are in vivo and in vitro assessments of comparative and combined toxicity of the same metallic nanoparticles compatible, or contradictory, or both? A juxtaposition of data obtained in some experiments with NiO and Mn₃O₄ nanoparticles / I. A. Minigalieva, T. V. Bushueva, E. Froehlich [et al.] //Food and Chemical

Toxicology. – 2017. – Vol. 109 (1). – P. 393-404.

119. Arnhold, J. Role of functional groups of human plasma and luminol in scavenging of NaOCl and neutrophil-derived hypochlorous acid / J. Arnhold, S. Hammerschmidt, K. Arnold // *Biochem. Biophys. Acta.* – 1991. – Vol. 1097 (2). – P. 145-151.

120. Assessment of the in vivo toxicity of gold nanoparticles / Y-Sh. Chen, Y-Ch. Hung, G.S. Huang // *Nanoscale Res. Letters.* – 2009. – Vol. 4 (8). – P. 858-864.

121. Atomic force microscopy investigation of phage infection of bacteria / E. V. Dubrovin, A. G. Voloshin, S. V. Kraevsky [et al.] // *Langmuir.* – 2008. – Vol.24. – P. 13068-13074.

122. Atomic force microscopy of the interaction of erythrocyte membrane and virus particles / B. N. Zaitsev, A. G. Durymanov, V. M. Generalov // *Proc. Intern. Workshop Scanning Probe Microscopy-2002.* – Nizhny Novgorod, 2002. – 211.

123. Atomic force microscopy study of fine structures of the entire surface of red blood cells / P. C. Zhang, C. Bai, Y. M. Huang [et al.] // *Scanning Microsc.* – 1995. – Vol. 9 (4). – P. 981-989.

124. Attenuation of adverse health effects of metallic nanoparticles with innocuous bioprotectors: mechanistic hypotheses and experimental results / A. Minigalieva, B. A. Katsnelson, L. I. Privalova [et al.] // *Journal of Clinical Toxicology.* – 2016. – Vol. 6 (6). – P. 38.

125. Barhoumi, L. Toxicity of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles on Green Alga *Chlorella vulgaris* / L. Barhoumi, D. Dewez // *BioMed Res. Int.* – 2013. – Art. ID 647974. – 11 p.

126. Bioaccumulation and toxicity of gold nanoparticles after repeated administration in mice / C. Lasagna-Reeves, D. Gonzalez-Romero, M. A. Barria [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – Vol. 393(4). – P. 649-55.

127. Bioaccumulation, toxicokinetics, and effects of copper from sediment spiked with aqueous Cu, nano-CuO, or micro-CuO in the deposit-feeding snail, *Potamopyrgus antipodarum* / C. Pang, H. Selck, G. T. Banta [et al.] // *Environ. Toxicol. Chem.* – 2013. – Vol. 32 (7). – P. 1561-73.

128. Biocompatibility and Toxicity of Magnetic Nanoparticles in Regenerative Medicine / H. Markides, M. Rotherham, A. J.El Haj // *J. Nanomaterials*. – 2012. – Vol. 2012. – Article ID 614094. – 11 p.
129. Biodistribution and acute toxicity of naked gold nanoparticles in a rabbit hepatic tumor model / E. S. Glazer, C. Zhu, A. N. Hamir [et al.] // *Nanotoxicology*. – 2011. – Vol. 5 (4). – P. 459-468.
130. Biodistribution of gold nanoparticles and gene expression changes in the liver and spleen after intravenous administration in rats / S. K. Balasurbamanian, J. Jittiwat, J. Manikandan [et al.] // *Biomater*. – 2010. – Vol. 31 (8). – P. 2034-2042.
131. Biofabrication of nano copper oxide and its aptamer bioconjugate for delivery of mRNA 29b to lung cancer cells / D. Wu, W. Wang, X. He, M. Jiang [et al.] // *Mater. Sci. Eng. C. Mater Biol Appl*. – 2019. – Vol. 97. – P. 827-832.
132. Biological effects of nano-nickel in rat lungs after administration by inhalation and by intratracheal instillation / A. Ogami, Y. Morimoto, M. Murakami [et al.] // *Journal of Physics*. – 2009. – Vol. 151 (1). – P. 1-5.
133. Biological prophylaxis of adverse health effects caused by environmental and occupational impacts - theoretical premises, experimental and field testing, practical realization / B. Katsnelson, L. Privalova, S. Kuzmin [et al.] // *Central. Eur. J. Occup. Envir. Med*. – 2009. – Vol. 15 (1-2). – P. 35-51.
134. Biopersistence of inhaled nickel oxide nanoparticles in rat lung / T. Oyabu, A. Ogami, Y. Morimoto [et al.] // *Inhal. Toxicol*. – 2007. – Vol. 19 (1). – P. 55-58.
135. Biopersistence of NiO and TiO₂ Nanoparticles Following Intratracheal Instillation and Inhalation / T. Oyabu, T. Myojo, B-W. Lee [et al.] // *Int. J. Mol. Sci*. – 2017. – Vol. 18 (12). – P. 2757.
136. Bolshakova, A. V. Microbial surfaces investigated using atomic force microscopy / A. V. Bolshakova, O. I. Kiselyova, I. V. Yaminsky // *Biotechnology Progress*. – 2004. – Vol. 20. – P. 1615-1622.
137. Brain microvessel endothelial cells responses to gold microparticles: in vitro proinflammatory mediators and permeability / W. J. Trickler, S. M. Lantz, R. C. Murdock [et al.] // *Nanotoxicology*. – 2011. – Vol. 5. – P. 479-492.

138. Capasso, L. Nickel oxide nanoparticles induce inflammation and genotoxic effect in lung epithelial cells / L. Capasso, M. Camatini, M. Gualtieri // *Toxicol. Lett.* – 2014. – Vol. 226 (1). – P. 28-34.
139. Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications / G. Ren, D. Hu, E. W. C. Cheng [et al.] // *Int. J Antimicrob Agents.* – 2009. – Vol. 33. – P. 587–590.
140. Chen, X. Nanosilver: A nanoparticle in medical application / X. Chen, H. Schluesener // *J. Toxicol. Lett.* – 2008. – Vol.176. – P.1-12.
141. Combined Subchronic Toxicity of Aluminum (III), Titanium (IV) and Silicon (IV) Oxide Nanoparticles and Its Alleviation with a Complex of Bioprotectors / I. A. Minigalieva, B. A. Katsnelson, L. I. Privalova [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2018. – Vol. 19 (3). – P. 837.
142. Comparative assessment of the effects of short-term inhalation exposure to Nickel oxide nanoparticles and microdispersed Nickel oxide / N. V. Zaitseva, M. A. Zemlyanova, V. N. Zvezdin [et al.] // *Nanotechnologies in Russia.* – 2016. – Vol. 11 (9-10). – P. 671-677.
143. Comparative study of genotoxicity and tissue distribution of nano and micron sized iron oxide in rats after acute oral treatment / S. P. Singh, M. F. Rahman, U. S. Murty [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacology.* – 2013. – Vol. 266 (1). – P. 56-66.
144. Comparative Study of Genotoxicity of Silver and Gold Nanoparticles Prepared by the Electric Spark Dispersion Method / E. Plotnikov, S. Zhuravkov, A. Gapeyev [et al.] // *J. Appl. Pharmaceut. Science.* – 2017. – Vol. 7 (07). – P. 035-039.
145. Comparative study of pulmonary responses to nano- and submicron ferric oxide in rats / M. T. Zhu, W. Y. Feng, B. Wang [et al.] // *Toxicology.* – 2008. – Vol. 247. – P. 102-111.
146. Comparative toxicity study of Ag, Au, Ag-Au bimetallic nanoparticles on *Daphnia magna* / T. Li, B. Albee, M. Alemayehu [et al.] // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2010. – Vol. 398. – P. 689-700.
147. Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress / S. Naqvi, M. Samim, M. Z. Abdin [et al.] // *Int. J.*

Nanomedicine. – 2010. – Vol. 5. – P. 983-989.

148. Construction of the genetic linkage map using restriction fragment length polymorphism / D. Botstein, R. L. White, M. Skolnick, R. V. Davis // *Amer. J. Hum. Genet.* – 1980. – Vol. 32. – P. 314.

149. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: a comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes / H. L. Klarsson, P. Cronholm, J. Gustafsson, L. Moller // *Chem. Res. Toxicol.* – 2008. – Vol. 21 (9). – P. 1726-32.

150. Copper toxicity and lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes: effect of vitamin E / R. J. Sokol, M. W. Devereaux, M. G. Traber, R. H. Shikes // *Pediatr. Res.* – 1989. – Vol. 25 (1). – P. 55-62.

151. Correlation between cytotoxicity and fibrogenicity of silicosis-inducing dusts / B. A. Katsnelson, L. I. Privalova, N. S. Kislitsina, G. A. Podgaiko // *Med. Lav.* – 1984. – Vol.75. – P. 450-462.

152. Creutzenberg, O. Toxic Effects of Various Modifications of a Nanoparticle Following Inhalation (Research Project F 2246) / O. Creutzenberg, Th. Gebel. – Dresden : Federal Institute for Occupational Safety and Health, 2013. – 402 p.

153. Cytotoxicity and genotoxicity of copper oxide nanoparticles in human skin keratinocytes cells / S. Alarifi, D. Ali, A. Verma [et al.] // *Intern. J. Toxicology.* – 2013. – Vol. 32 (4). – P. 296-307.

154. Cytotoxicity and genotoxicity of iron oxide nanoparticles: an in vitro biosafety study / El. Sonmez, E. Aydin, T. Hasan [et al.] // *Arch. Biol. Sci.* – 2016. – Vol. 68 (1). – P. 41-50.

155. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells / P. V. Asharani, G. Low Kah Mun, M. Prakash Hande [et al.] // *ACS Nano.* – 2009. – Vol. 3 (2). – P. 279-290.

156. Cytotoxicity of gold nanoparticles prepared by ultrasonic spray pyrolysis / R. Rudolf, B. Friedtich, S. Stopic [et al.] // *J. Biomaterials Applic.* – 2012. – Vol. 26 (5). – P. 595-612.

157. Demonstration of an olfactory bulb-brain translocation pathway for ZnO nanoparticles in rodent cells in vitro and in vivo / Y. Y. Kao, T. J. Cheng, D. M. Yang,

P. Sh. Liu // *J. Molecular Neurosci.* – 2012. – Vol. 48 (2). – P. 464-71.

158. Detection of the Single Nucleotide Polymorphism at Position rs2735940 in the Human Telomerase Reverse Transcriptase Gene by the Introduction of a New Restriction Enzyme Site for the PCR-RFLP Assay / S. Wang, M. Ding, X. Duan [et al.] // *An. Clin. Lab. Sci.* – 2017. – Vol. 47 (5). – P. 546-550.

159. Development of a multicompartamental model of the kinetics of quartz dust in the pulmonary region of the lung during chronic inhalation exposure of rats / B. A. Katsnelson, L. K. Konyshcheva, L. I. Privalova, K. I. Morosova // *Brit. J. Ind. Med.* – 1992. – Vol. 49. – P. 172-181.

160. Dietary wine phenolics catechin, quercetin, and resveratrol efficiently protect hypercholesterolemic hamsters against aortic fatty streak accumulation / C. L. Auger, P. L. Teissedre, P. Gerain [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2005. – Vol. 53 (6). – P. 2015-21.

161. Differences in the extent of inflammation caused by intratracheal exposure to three ultrafine metals: role of free radicals / Q. Zwang, K. Yukinori, K. Sano [et al.] // *J. Toxicol. Environmental Health.* – 1998. – Vol. 53. – P. 423-438.

162. Differential distribution and association of FTO rs9939609 gene polymorphism with obesity: A cross-sectional study among two tribal populations of India with East-Asian ancestry / S. S. Ningombam, V. Chhungi, M. K. Newmei [et al.] // *Gene.* - 2018. - Vol. 647. - P. 198-204.

163. Dissolution and biodurability: Important parameters needed for risk assessment of nanomaterials / W. Utembe, K. Potgieter, A. B. Stefaniak, M. Gulumian // *Part. Fibre Toxicol.* – 2015. – Vol.12. – P. 11.

164. Dissolved Organic Matter Modulates Algal Oxidative Stress and Membrane System Responses to Binary Mixtures of Nano-Metal-Oxides (nCeO₂, nMgO and nFe₃O₄) and Sulfadiazine / F. Zhang, N. Ye, S. Wang [et al.] // *Nanomaterials (Basel).* – 2019. – Vol. 9 (5). – P. E712.

165. DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells / M. Ahamed, M. Karns, M. Goodson [et al.] // *Toxicol. Applied Pharmacology.* – 2008. – Vol. 233 (3). – P. 404-410.

166. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers / I. Williams, A. R. Kubelik, K. I. Livak [et al.] // *Nucleic. Acids Res.* – 1990. – Vol. 18 (22). – P. 6531.

167. Dose-dependent benefits of quercetin on tumorigenesis in the C3(1)/SV40Tag transgenic mouse model of breast cancer / J. L. Steiner, J. M. Davis, J. L. McClellan [et al.] // *Cancer Biology and Therapy.* – 2014. – Vol. 15 (11). – P. 1456-1467.

168. Dose-dependent genotoxicity of copper oxide nanoparticles stimulated by reactive oxygen species in human lung epithelial cells / M. J. Akhtar, S. Kumar, H. A. Alhadlaq [et al.] // *Toxicol. Ind. Health.* – 2016. – Vol. 32 (5). – P. 809-821.

169. Досыбаева, Г. Н. Цитоморфологическая оценка клеток бронхоальвеолярного лаважа, печени и желудка при воздействии хлопковой пыли, содержащей фосфоорганические пестициды в эксперименте / Г. Н. Досыбаева // *World Science. International Scientific and Practical Conference.* – 2016. – Vol. 3, № 5 (9). – P. 22-25.

170. Dykman, L. Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives / L. Dykman, N. Khlebtsov // *Chem. Soc. Rev.* – 2012. – Vol. 41 (6). – P. 2256-2282.

171. Effects of iron oxide nanoparticles on pulmonary morphology, redox system, production of immunoglobulins and chemokines in rats: in vivo and in vitro studies / B. Szalay, Z. Kovacikova, M. Brozik [et al.] // *CEJOEM.* – 2008. – Vol. 14 (2). – P. 149-164.

172. Elbially, N. S. Long-term biodistribution and toxicity of curcumin capped iron oxide nanoparticles after single-dose administration in mice / N. S. Elbially, S. F. Aboushousah, W. W. Alshammari // *Life Sciences.* – 2019. – Vol. 230. – P. 76-83.

173. Ellman, G. A precise method for the determination of whole blood and plasma sulfhydryl groups / G. Ellman, H. Lysko // *Anal. Biochem.* – 1979. – Vol. 93 (1). – P. 98-102.

174. Erythropoietin-mediated erythrocytosis in rodents after intrarenal injection of nickel subsulfide / F. W. Sunderman, Jr. M. Hopfer, M. C. Reid [et al.] // *Yale J. Biol.*

Med. – 1982. – Vol. 55 (2). – P. 123-136.

175. Evaluation of genotoxic effect of silver nanoparticles (Ag-Nps) in vitro and in vivo / P. Tavares, F. Balbinot, H. Martins de Oliveira [et al.] // *J. Nanoparticle Research*. – 2012. – Vol. 14. – P. 791.

176. Exposure to inhalable, respirable, and ultrafine particles in welding fume / M. Lehnert, B. Pesch, A. Lotz [et al.] // *Ann. Occup. Hyg.* – 2012. – Vol. 56 (5). – P. 557-567.

177. Fadeel, B. Clear and present danger? Engineered nanoparticles and the immune system / B. Fadeel // *Swiss Med. Wkly.* – 2012. – Vol. 142. – P.

178. Feichtenhofer, S. Ceruloplasmin as low-density lipoprotein oxidase: activation by ascorbate and dehydroascorbate / S. Feichtenhofer, J. S. Fabjan, P. M. Abuja // *FEBS Letter.* – 2001. – Vol. 501 (1). – P. 42-46.

179. Foldbjerg, R. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in the human lung cancer cell line, A549 / R. Foldbjerg, D. A. Dang, H. Autrup // *Arch. Toxicol.* – 2011. – Vol. 85. – P. 743-750.

180. Formation of the Protein Corona: The Interface between Nanoparticles and the Immune System / F. Barbero, L. Russo, M. Vitali [et al.] // *Semin Immunol.* – 2017. – Vol. 34. – P. 52-56.

181. Frohlich, E. Cellular targets and mechanisms in the cytotoxic action of non-biodegradable engineered nanoparticles / E. Frohlich // *Curr. Drug. Metab.* – 2013. – Vol. 14 (9). – P. 976-88.

182. Gallyas, F. Chemical nature of the first products (nuclei) of the argyrophil stainig / F. Gallyas // *Acta Histochemica.* – 1980. – Vol. 67 (2). – P. 145-146.

183. Genotoxicity of copper oxide and silver nanoparticles in the mussel *Mytilus galloprovincialis* / T. Gomes, O. Araujo, R. Pereira [et al.] // *J. Mar. Environ. Res.* – 2013. – Vol. 84. – P. 51-59.

184. Genotoxicity study of nickel oxide nanoparticles in female Wistar rats after acute oral exposure / N. Dumala, B. Mangalampalli, S. Chinde, S.I. Kumari // *Mutagenesis.* – 2017. – Vol. 32 (4). – P. 417-427.

185. Glucose accelerates copper- and ceruloplasmin-induced oxidation of low-

density lipoprotein and whole serum / V. Leoni, R. Albertini, A. Passi [et al.] // *Free Radic. Res.* – 2002. – Vol. 36. – P. 521-529.

186. Gold nanoparticles of diameter 1.4 nm trigger necrosis by oxidative stress and mitochondrial damage / Y. Pan, A. Leifert, D. Ruau [et al.] // *Small.* – 2009. – Vol. 5(18). – P. 2067-2076.

187. Hematite nanoparticles larger than 90 nm show no sign of toxicity in terms of lactate dehydrogenase release, nitric oxide generation, apoptosis, and comet assay in murine alveolar macrophages and human lung epithelial cells / F. S. Freyria, B. Bonelli, M. Tomatis [et al.] // *Chem. Res. Toxicol.* – 2012. – Vol. 25 (4). – P. 850-861.

188. Hendrickson, H. S. Comparison of the metal-binding properties of nitrilotri(methylenephosphonic) acid and nitrilotriacetic acid: calcium(II), nickel (II), iron (III), and thorium (IV) complexes / H. S. Hendrickson // *Analytical Chemistry.* – 1967. – Vol. 39 (8). – P. 998-1000.

189. Ho, V.T. Effects of transition metals on the expression of the erythropoietin gene: further evidence that the oxygen sensor is a heme protein / V. T. Ho, H. F. Bunn // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1996. – Vol. 223. – P. 175-180.

190. Homocysteine promotes the LDL oxidase activity of ceruloplasmin / M. Exner, M. Hermann, R. Hofbauer [et al.] // *FEBS Lett.* – 2002. – Vol. 531. – P. 402-406.

191. Human respiratory tract model for radiological protection. A report of a Task Group of the International Commission on Radiological Protection // *Ann. ICRP.* – 1994. – Vol. 24 (1-3). – P. 1-482.

192. Impact of gold nanoparticle concentration on their cellular uptake by MC3T3-E1 mouse osteoblastic cells as analyzed by transmission electron microscopy / T. Mustafa, F. Watanabe, W. Monroe [et al.] // *J. Nanomedic. Nanotechnol.* – 2011. – Vol. 2. – P. 1-8.

193. Improved method to disperse nanoparticles for *in vitro* and *in vivo* investigation of toxicity / T. M. Sager, D. W. Porter, V. A. Robinson [et al.] // *Nanotoxicology.* – 2007. – Vol.1. – P. 118-129.

194. In vitro biosynthesis and genotoxicity bioassay of silver nanoparticles using

plants / K. K. Panda, V. M. Achary, R. Krishnaveni [et al.] // *Toxicol. in Vitro.* – 2011. – Vol. 25 (5). – P. 1097-1105.

195. Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish / J. E. Choi, S. Kim, J. H. Ahn [et al.] // *Aquatic Toxicology.* – 2010. – Vol. 100 (2). – P. 151-159.

196. Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm / V. H. Grassian, P. T. O'Shaughnessy, A. Adamcakova-Dodd [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2007. – Vol. 115. – P. 397-402.

197. Instillation of six different ultrafine carbon particles indicates a surface area threshold dose for acute lung inflammation in mice / T. Stoeger, C. Reinhard, Sh. Takenaka [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2006. – Vol. 114 (3). – P. 328-333.

198. Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells / S. Arora, J. Jain, J. M. Rajwade, K. M. Paknikar // *Toxicol. applied Pharmacology.* – 2009. – Vol. 236. – P. 310-318.

199. Interference of CuO nanoparticles with metal homeostasis in hepatocytes under sub-toxic conditions / M. Cuillel, M. Chevallet, P. Charbonnier [et al.] // *Nanoscale.* – 2014. – Vol. 16 (3). – P. 1707-15.

200. Interference of silver, gold, and iron oxide nanoparticles on epidermal growth factor signal transduction in epithelial cells / K. K. Comfort, E. I. Maurer, L. K. Braydich-Stoll, S. M. Hussain // *ACS Nano.* – 2011. – Vol. 5 (12). – P. 10000-10008.

201. International guiding principles for biomedical research involving animals. – Geneva, 1985. – 28 p.

202. Intracellular uptake and toxicity of Ag and CuO nanoparticles: a comparison between nanoparticles and their corresponding metal ions / P. Cronholm, H. L. Karlsson, J. Hedberg [et al.] // *Small.* – 2013. – Vol. 8 (9). – P. 970-82.

203. Joseph, G. Industrial hygiene air monitoring report // DuPont Co. internal report. – 2002.

204. Jugan, M. L. Endocrine disruptors and thyroid hormone physiology / M. L. Jugan, Y. Levi, J. P. Blondeau // *Biochem. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 79 (7). – P. 939-947.

205. Kadi, I. E. Vitamin C pretreatment protects from nickel-induced acute nephrotoxicity in mice / I. E. Kadi, F. Dahdouh // *Arh. Hig. Rada Toksikol.* – 2016. – Vol. 67 (3). – P. 210-215.
206. Katsnelson, B. A. Recruitment of phagocytizing cells into the respiratory tract as a response to the cytotoxic action of deposited particles / B. A. Katsnelson, L. I. Privalova // *Environm. Health Per.* – 1984. – Vol. 55. – P. 313-325.
207. Kilburn, K. H. Alveolar clearance of particles. A bullfrog lung model / K. H. Kilburn // *Arch. Environm. Health.* – 1996. – Vol. 18. – P. 556-563.
208. Kim, J. Differentiation of toxicities of silver nanoparticles and silver ions on the Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and the cladoceran *Daphnia magna* / J. Kim, S. Kim, S. Lee // *Nanotoxicology.* – 2011. – Vol. 5. – P. 208-214.
209. Kinetics of monosodium glutamate in human volunteers under different experimental conditions / P. Ghezzi, M. Bianchi, L. Gianera, M. Salmona // *Food and Chem. Toxicol.* – 1985. – Vol. 23 (11). – P. 975-978.
210. Kolanjiyil, A. V. Deposited nanomaterial mass transfer from lung airways to systemic regions / A. V. Kolanjiyil : thesis submitted to the Graduate Faculty of North Carolina State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science. – Raleigh, North Carolina, 2013. – 248 p.
211. Kupffer cell engulfment of apoptotic bodies stimulates death ligand and cytokine expression / A. Canbay, A. E. Feldstein, H. Higuchi [et al.] // *Hepatology.* – 2003. – Vol. 38. – P. 1188-11.
212. Kupffer cells are central in the removal of nanoparticles from the organism / E. Sadauskas, H. Wallin, M. Stoltenberg [et al.] // *Part Fibre Toxicol.* – 2007. – Vol. 4 (10). – P. 10.
213. Lewinski, N. Human inhalation exposure to iron oxide particles / N. Lewinski, H. Graczyk, M. Riediker // *BioNanoMat.* – 2013. – Vol. 14 (1-2). – P. 5-23.
214. Li, N. The role of oxidative stress in ambient particulate matter-induced lung diseases and its implications in the toxicity of engineered nanoparticles / N. Li, T. Xia, A.E. Nel // *Free Rad. Biol. Med.* – 2008. – Vol.44. – P. 1689-1699.
215. Liao, M. Gene expression profiling of nephrotoxicity from copper

nanoparticles in rats after repeated oral administration / M. Liao, H. Liu // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 34 (1). – P. 67-80.

216. Linking hydrophilic macromolecules to monodisperse magnetite (Fe_3O_4) nanoparticled via trichloro-S-triazine / J. Xie, Ch. Xu, Y. Hou [et al.] // *Chem. Mater.* – 2006. – Vol. 18. – P. 5401-5403.

217. Lung clearance and retention of toner, utilizing a tracer technique, during chronic inhalation exposure in rats / B. Bellmann, H. Muhle, O. Creutzenberg, C. Dasenbrock // *Fundam. Appl. Toxicol.* – 1991. – Vol.17. – P. 300-313.

218. Magaye, R. Recent progress in studies of metallic nickel and nickel-based nanoparticles' genotoxicity and carcinogenicity / R. Magaye, J. Zhao // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 34 (3). – P. 644-650.

219. Magnetic nanoparticles: generating methods, structure, and properties / S. P. Gubin, Yu. A. Koksharov, G. B. Homutov [et al.] // *Uspekhi Chimii.* – 2005. – Vol. 74. – P. 539-574.

220. Management of nanomaterials safety in research environment / A. Grocco, A. Petri-Fink, A. Magrez [et al.] // *Particles and Fibers Toxicol.* – 2010. – Vol. 7. – P. 40.

221. Maulderly, J. L. Particle overload in the rat lung and lung cancer, Implications for human risk assessment / J. L. Maulderly, R. G. McCunney. – USA Taylor & Francis, Philadelphia, 1997. – 20 p.

222. Metal nanoparticle-induced micronuclei and oxidative DNA damage in mice / M. F. Song, Y. S. Li, H. Kasai, K. Kawai // *J. Clin. Biochemistry and Nutrition.* – 2012. – Vol. 50 (3). – P. 211-216.

223. Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO , NiO , ZnO , and Sb_2O_3) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus* / Y.-W. Baek, Y.-J. An // *Sci. Total Environ.* – 2011. – Vol. 409. – P. 1603–1608.

224. Mukhopadhyay C. K. Role of hypoxia-inducible factor-1 in transcriptional activation of ceruloplasmin by iron deficiency / C. K. Mukhopadhyay, B. Mazumder, P. L. Fox // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275. – P. 21048-21054.

225. Mutagenicity evaluation of metal oxide nanoparticles by the bacterial

reverse mutation assay / X. Pan, J. E. Redding, P. A. Wiley, L. Wen // *Chemosphere*. – 2010. – Vol. 79, Is.1. – P. 113-6.

226. Nano copper induced apoptosis in podocytes via increasing oxidative stress / P. Xu, J. Xu, S. Liu, Z. Yang // *J. Hazard. Mater.* – 2012. – Vol. 30 (241-242). – P. 279-286.

227. Nanoparticle delivery in infant lungs / M. Semmler-Behnke, W. G. Kreyling, H. Schulz [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2012. – Vol. 109 (13). – P. 5092-5097.

228. Nanoparticle-allergen interactions mediate human allergic responses: protein corona characterization and cellular responses / I. Radauer-Preiml, A. Andosch, T. Hawranek [et al.] // *Part Fibre Toxicol.* – 2016. – Vol. 13. – P. 3.

229. Nanosilver induces minimal lung toxicity or inflammation in a subacute murine inhalation model / L. V. Stebounova, A. Adamcakova-Dodd, J. S. Kim // *Particles & Fibers Toxicol.* – 2011. – Vol. 8 (1). – P. 1-12.

230. Nanotoxicity and spectroscopy studies of silver nanoparticle: calf thymus DNA and k562 as targets / M. Rahban, A. Divsalar, A. A. Saboury, A. Golestani // *J. Phys. Chem.* – 2010. – Vol. 114 (13). – P. 7.

231. Nanotoxicity of iron oxide nanoparticle internalization in growing neurons / T. R. Pisanic 2nd, J. D. Blackwell, V. I. Shubayev [et al.] // *Biomaterials*. – 2007. – Vol. 28 (16). – P. 2572-2581.

232. Nanotoxicology / K. Donaldson, V. Stone, C.K. Tran [et al.] // *Occup. Environ. Med.* – 2004. – Vol. 61. – P. 727-728.

233. Neuberger, M. Umweltepidemiologie und Toxikologie von Nanopartikeln / M. Neuberger // *Nano-Chancen und Risiken aktueller Technologien*. – Wien-New York : Springer, 2007. – P. 181-197.

234. Nickel oxide nanoparticles can recruit eosinophils in the lungs of rats by the direct release of intracellular eotaxin / S. Lee, S-H. Hwang, J. Jeong [et al.] // *Part Fibre Toxicol.* – 2016. – Vol. 13. – P. 30.

235. Nickel oxide nanoparticles induced pulmonary fibrosis via TGF- β 1 activation in rats / X. H. Chang, A. Zhu, F. F. Liu [et al.] // *Human. Experimental*

Toxicology. – 2016. – Vol. 36 (8). – P. 802-812.

236. Nickel Release, ROS Generation and Toxicity of Ni and NiO Micro- and Nanoparticles / S. Latvala, J. Hedberg, S. Di Bucchianico [et al.] // PLoS One. – 2016. – Vol. 11 (7). – e0159684.

237. NMR-based metabonomic study of the sub-acute toxicity of titanium dioxide nanoparticles in rats after oral administration / Q. Bu, G. Yan, P. Deng [et al.] // Nanotechnology. – 2010. – Vol. 21 (2). – P. 105-125.

238. Oberdorster, G. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studied of ultrafine particles / G. Oberdorster, E. Oberdorster, J. Oberdorster // Environ. Health Persp. – 2005. – Vol. 113. – P. 823-839.

239. On the relationship between activation and the breakdown of macrophages in pathogenesis of silicosis / L. I. Privalova, B. A. Katsnelson, N. Ye. Sharapova, N. S. Kislitsina // Medic Lavoro. – 1995. – Vol. 86 (6). – P. 511-521.

240. Particle size distribution of welding fume and its dependency on conditions of shielded metal arc welding / A. A. Ennan, S. A. Kiro, M. V. Oprya, V. I. Vishnyakov // J. Aerosol Sci. – 2013. – Vol. 65. – P. 103-110.

241. Pesticidal Copper (I) Oxide: Environmental Fate and Aquatic Toxicity / L. Kiaune, N. Singhasemanon // Rev. Environ. Contam Toxicol. – 2011. – 213 P. 1-26. – Doi: 10.1007/978-1-4419-9860-6_1.

242. Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION) / N. Singh, G. J. S. Jenkins, R. Asadi, S. H. Doak // Nano Rev. – 2010. – Vol. 1. – P. 5358.

243. Prediction of the comparative intensity of pneumoconiotic changes caused by chronic inhalation exposure to dusts of different cytotoxicity by means of a mathematical model / B. A. Katsnelson, L. K. Konysheva, N. Ye. Sharapova, L. I. Privalova // Occup. Environm. Med. – 1994. – Vol. 51. – P. 173-180.

244. Privalova, L. I. Some peculiarities of the pulmonary phagocytotic response, dust kinetics, and silicosis development during long term exposure of rats to high quartz levels / L. I. Privalova, B. A. Katsnelson, L. N. Yelnichnykh // Brit. J. Ind. Med. – 1987. – Vol. 44. – P. 228-235.

245. Proinflammogenic Effects of Low-Toxicity and Metal Nanoparticles In Vivo and In Vitro: Highlighting the Role of Particle Surface Area and Surface Reactivity / R. Duffin, L. Tran, D. Brown [et al.] // *Inhal. Toxicol.* – 2007. – Vol. 19 (10). – P. 849-56.

246. Protective effect of L-ascorbic acid on nickel induced pulmonary nitrosative stress in male albino rats / S. H. Hattiwale, S. Saha, S. M. Yendigeri [et al.] // *Biometals.* – 2013. – Vol. 26 (2). – P. 329-36.

247. Protein corona and nanoparticles: how can we investigate on? / F. Pederzoli, G. Tosi, M. A. Vandelli [et al.] // *Wiley Interdisciplinary Reviews. Nanomed. Nanobiotechnol.* – 2017. – Vol. 9 (6). – P. e1467.

248. Protein corona: implications for nanoparticle interactions with pulmonary cells / N. V. Konduru, R. M. Molina, A. Swami [et al.] // *Part Fibre Toxicol.* – 2017. – Vol. 14 (1). – P. 42.

249. Pulmonary bioassay studies with nanoscale and fine-quartz particles in rats: toxicity is not dependent upon particle size but on surface characteristics / D. B. Warheit, T. R. Webb, V. L. Colvin, K. L. Reed // *Toxicol Sci.* – 2007. – Vol. 95. – P. 270-280.

250. Pulmonary response after exposure to inhaled nickel hydroxide nanoparticles: short and long-term studies in mice / P. A. Gillespie, G. S. Kang, A. Elder [et al.] // *Nanotoxicology.* – 2010. – Vol. 4 (1). – P. 106-119.

251. Pulmonary toxicity and kinetic study of Cy5,5-conjugated superparamagnetic iron oxide nanoparticles by optical imaging / W. S. Choi, M. Cho, S. R. Kim [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 239. – P. 106-115.

252. Quartz dust retention in rat lungs under chronic exposure simulated by a multicompartamental model: Further evidence of the key role of the cytotoxicity of quartz particles / B. A. Katsnelson, L. K. Konyshva L. Y. Privalova, N. Y. Sharapova // *Inhalat. Toxicol.* – 1997. – Vol. 9. – P. 703-715.

253. Ranganathan, S. Quercetin Suppresses Twist to Induce Apoptosis in MCF-7 Breast Cancer Cells / S. Ranganathan, D. Halagowder, N. D. Sivasithambaram // *PLoS One.* – 2015. – № 10 (10).

254. Reactivity of engineered inorganic nanoparticles and carbon nanostructures in biological media / N. G. Bastus, E. Casals, V. C. Socorro, V. Puentes // *Nanotoxicology*. – 2008. – Vol. 2 (3). – P. 99-112.

255. Regulatory approaches to worker protection in nanotechnology industry in the USA and European Union / V. Murashov, P. Shulte, C. Geraci, J. Howard // *Industr. Health*. – 2011. – Vol. 49. – P. 280-296.

256. Renwick L. Increased inflammation and altered macrophage chemotactic responses caused by two ultrafine particle types / L. Renwick, Br. K. Clouter, K. Donaldson // *Occupat. Environm. Med.* – 2004. – Vol. 61. – P. 442-447.

257. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nano-particles / E-J. Park, E. Bae, Y. Yi [et al.] // *Environm. Toxicol. and Pharmacol.* – 2010. – Vol. 30 (2). – P. 162-168.

258. Risk assessment of manufactured nanomaterials: “Approaches”— Overview of approaches and results // NEDO project (P06041) “Research and Development of Nanoparticle Characterization Methods”. – Nakanishi J., 2011.

259. Sharifiyazdi, H. Characterization of polymorphism in the FSH receptor gene and its impact on some reproductive indices in dairy cows / H. Sharifiyazdi, A. Mirzaei, Z. Ghanaatian // *Anim. Reprod. Sci.* – 2018. – Vol. 188. – P. 45-50.

260. Silver nanoparticle induced blood-brain barrier inflammation and increased permeability in primary rat brain micro vessel endothelial cells / W. J. Trickler, S. M. Lantz, R. C. Murdock [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2010. – Vol. 118. – P.160-170.

261. Size-dependent toxicity of metal oxide particles - a comparison between nano- and micrometer size / H. L. Karlsson, J. Gustafsson, P. Cronholm, L. Moller // *Toxicol Lett.* – 2009. – Vol. 88 (2). – P. 112-8.

262. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles / B. A. Katsnelson, I. A. Minigaliyeva, L. I. Privalova [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. – 2015. – Vol. 86. – P. 351-364.

263. Sotiriou, G. A. Antibacterial activity of nanosilver ions and particles / G. A. Sotiriou, S. E. Pratsinis // *Environm. Sci. and Technology*. – 2010. – Vol. 44 (14). –

P. 5649-5654.

264. Sousa, C. A. Toxic effects of nickel oxide (NiO) nanoparticles on the freshwater alga *Pseudokirchneriella subcapitata* / C. A. Sousa, H. M. Soares, E. V. Soares // *Aquat. Toxicol.* – 2018. – Vol. 204. – P. 80-90.

265. Srivastava, M. Exposure to silver nanoparticles inhibits selenoprotein synthesis and the activity of thioredoxin reductase / M. Srivastava, S. Singh, W. T. Self // *Environ. Health. Perspect.* – 2011. – Vol. 120. – P. 56-61.

266. Sub-toxic effects of CuO nanoparticles on bacteria: kinetics, role of Cu ions and possible mechanisms of action / O. Bondarenko, A. Ivask, A. Kakinen, A. Kahru // *Environ. Pollut.* – 2012. – Vol. 169. – P. 81-89.

267. Tailoring Cell Morphomechanical Perturbations Through Metal Oxide Nanoparticles / V. De Matteis, M. Cascione, C. C. Toma [et al.] // *Nanoscale Res. Lett.* – 2019. – Vol.14 (1). – P.109.

268. The effect of particle size on the cytotoxicity, inflammation, developmental toxicity and genotoxicity of silver nanoparticles / M. V. Park, A. M. Neigh, J. P. Vermeulen [et al.] // *Biomaterials.* – 2011. – Vol. 32 (36). – P. 9810-9817.

269. The toxicology of ion-shedding zinc oxide nanoparticles / J. Liu, X. Feng, L. Wei [et al.] // *Crit. Rev. Toxicol.* – 2016. – Vol. 46 (4). – P. 348-384.

270. The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles / Y.-N. Chang, M. Zhang, L. Xia [et al.] // *Materials.* – 2012. – Vol. 5. – P. 2850-2871. – Doi:10.3390/ma5122850.

271. Theodorou, I. G. Effect of pulmonary surfactant on the dissolution, stability and uptake of zinc oxide nano wires by human respiratory epithelial cells / I. G. Theodorou, P. Ruenraroengsak // *Nanotoxicology.* – 2016. – Vol. 21. – P 1-37.

272. Titanium dioxide nanoparticles induce oxidative stress and DNA-adduct formation but not DNA-breakage in human lung cells / K. Bhattacharya, M. Davoren, J. Boertz [et al.] // *Part. Fibre Toxicol.* – 2009. – Vol. 6. – P. 17.

273. Tiwari, D. K. Dose-dependent in-vivo toxicity assessment of silver nanoparticle in Wistar rats // *Toxicology mechanisms and methods* / D. K. Tiwari, T. Jin, J. Behari. – 2011. – Vol. 21 (1). – P. 13-24.

274. Tkeshelashvili, L. Effect of some nickel compounds on erythrocyte characteristics / L. Tkeshelashvili, K. Tsakadze, O. Khulusauri // *Biol. Trace Elem. Res.* – 1989. – Vol. 21 (1). – P. 337-342.

275. Toxicological considerations of clinically applicable nanoparticles / L. Yildirimer, N. T. K. Thanh, M. Loizidou, A. M. Seifalian // *Nano Today.* – 2011. – Vol. 6. – P. 585-607. – Doi:10.1016/j.nantod.2011.10.001.

276. Toxic effects of iron oxide nanoparticles on human umbilical vein / W. U. Xinying, T. Yanbin, M. Hui, M. Zhang. – 2010. – Vol. 5. – P. 385-399.

277. Toxicity and Biokinetics of Colloidal Gold Nanoparticles / M. R. Jo, S. H. Bae, M. R. Go, H. J. Kim // *Nanomaterials (Basel).* – 2015. – Vol. 5 (2). – P. 835-850.

278. Toxicity assessment of zinc oxide nanoparticles using sub-acute and sub-chronic murine inhalation models / A. Adamcakova-Dod, L. V. Stebounova, J. S. Kim [et al.] // *Part. Fibre Toxicology.* – 2014. – Vol. 11. – P. 15.

279. Toxicity of Engineered Nickel Oxide and Cobalt Oxide Nanoparticles to *Artemia salina* in Seawater / M. Ates, V. Demir, Z. Arslan [et al.] // *Water, Air, Soil Pollution.* – 2016. – Vol. 227. – P. 70-78.

280. Translocation and effects of gold nanoparticles after inhalation exposure in rats / L. E. Yu, L.-Y. L. Yung, C.-N. Ong [et al.] // *Nanotoxicology.* – 2007. – Vol. 1 (3). – P. 235-242.

281. Translocation of Inhaled Ultrafine Manganese Oxide Particles to the Central Nervous System / A. Elder, R. Gelein, V. Silva, T. Feikert [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2006. – Vol. 114 (8). – P. 1172-1178.

282. Translocation of inhaled ultrafine particle to the brain / G. Oberdorster, Z. Sharp, V. Atudore [et al.] // *Inhal. Toxicol.* – 2004. – Vol. 16 (6/7). – P. 437-445.

283. Twenty-eight day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats / Y. S. Kim, J. S. Kim, H. S. Cho [et al.] // *Inhal. Toxicol.* – 2008. – Vol. 20. – P. 575-583.

284. Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats / J. J. Ho, J. J. Hee, K. S. Soo [et al.] // *Inhalat. Toxicol.* – 2007. – Vol. 19 (10). – P. 857-871.

285. Ultra small c(RgDyK)-coated Fe₃O₄ nanoparticles and their specific targeting to integrin $\alpha_v\beta_3$ -rich tumor cells / J. Xie, K. Chen, H.-Y. Lee [et al.] // J. Am. Chem. Soc. – 2008. – Vol. 130. – P. 7452-7453.

286. Uptake of gold nanoparticles in murine macrophage cells without cytotoxicity or production of pro-inflammatory mediators / Q. Zhang, V. M. Hitchins, A. M. Schrand [et al.] // Nanotoxicology. – 2011. – Vol. 5. – P. 284-295.

287. Vitamin D alleviates lead induced renal and testicular injuries by immunomodulatory and antioxidant mechanisms in rats / M. A. BaSalamah, A. H. Abdelghany, M. El-Boshy [et al.] // Sci. Rep. – 2018. – Vol. 8 (1). – P. 4853.

288. Wallace, R. B. DNA recombinant technology / R. B. Wallace. – Boca Raton (Fla.) : CRC press, 1983. – 212 p.

289. Yokel, R. A. Engineered nanomaterials: exposures, hazards, and risk prevention / R. A. Yokel, R. C. MacPhail // J. Occup. Med. Toxicol. – 2011. – № 6. – P. 7.