

ОШ МАМЛЕКЕТТИК УНИВЕРСИТЕТИНИН ЖАРЧЫСЫ

ВЕСТНИК ОШКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

BULLETIN OF OSH STATE UNIVERSITY

ISSN: 1694-7452 e-ISSN: 1694-8610

№1/2026, 261-275

ХИМИЯ

УДК: 574.64, 57.04

DOI: [10.52754/16948610_2026_1_18](https://doi.org/10.52754/16948610_2026_1_18)

**БИОТЕСТИРОВАНИЕ И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ
СИНТЕЗИРОВАННЫХ ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ**

**СИНТЕЗДЕЛГЕН ГУМИНДИК ПРЕПАРАТТАРДЫ БИОТЕСТИРЛӨӨ ЖАНА
ТОКСИКОЛОГИЯЛЫК СЫНОО**

**BIOTESTING AND TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF SYNTHESISED HUMIC
PREPARATIONS**

Жаркынбаева Роза Абдимаматовна

Жаркынбаева Роза Абдимаматовна

Zharkynbaeva Roza Abdimamatovna

преподаватель, Ошский государственный университет

окутуучу, Ош мамлекеттик университети

Lecturer, Osh State University

rjarkynbaeva@oshsu.kg

БИОТЕСТИРОВАНИЕ И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ СИНТЕЗИРОВАННЫХ ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Аннотация

Острой проблемой современного сельского хозяйства является отсутствие безопасных и эффективных препаратов биологически доступного железа. При дефиците железа у растений возникает заболевание, сопровождающееся угнетением роста, которое приводит к снижению урожайности и питательной ценности сельскохозяйственных продуктов. Для коррекции данного заболевания используют либо растворимые соли железа, которые в низких дозах малоэффективны, а в высоких – токсичны, либо синтетические хелаты (Fe-ЭДТА, Fe-ДТПА, Fe-ЭДДГА и другие). Минимизация воздействия химических веществ на агроэкосистемы может быть осуществлена заменой агрессивных для окружающей среды агрохимикатов на безопасные аналоги, полученные на основе природных материалов. Перспективным сырьем для получения таких материалов являются гуминовые вещества (ГВ). Цель и задачи исследования заключаются в получении железосодержащих гуминовых препаратов, представленных в форме гуматов железа, а также высокодисперсных оксидов, стабилизированных гуминовыми веществами, и выяснении возможности практического применения их в качестве стимуляторов роста и развития растений.

Ключевые слова: гуминовые вещества, препараты железа, синтетические хелаты, препараты биологически доступного железа, биотестирование, токсикологические испытания

*Синтезделген гуминдик препараттарды
биотестирилөө жана токсикологиялык сыноо*

*Biotesting and toxicological assessment of synthesised
humic preparations*

Аннотация

Заманбап айыл чарбасынын курч көйгөйү - биологиялык жеткиликтүү темирдин коопсуз жана эффективдүү препараттарынын жоктугу. Өсүмдүктөрдө темирдин жетишсиздиги айыл чарба азыктарынын түшүмдүүлүгүнүн жана азыктык баалуулугунун төмөндөшүнө алып келүүчү, өсүү темп менен коштолгон ооруну пайда кылат. Бул ооруну оңдоо үчүн же аз дозада натыйжасыз жана жогорку дозада уулуу эрүүчү темир туздары, же синтетикалык хелаттар (Fe-EDTA, Fe-DTPA, Fe-EDDGA жана башкалар) колдонулат. Химиялык заттардын агроэкосистемага тийгизген таасирин минималдаштыруу экологиялык агрессивдүү агрохимикаттарды табигый материалдардан алынган коопсуз аналогдор менен алмаштыруу аркылуу жетишүүгө болот. Мындай материалдарды алуу үчүн келечектүү сырьё болуп гуминдик заттар (ГЗ) саналат. Изилдөөнүн максаты жана милдеттери темир гуматтар түрүндө берилген темир камтыган гуминдик препараттарды, ошондой эле гуминдик заттар менен турукташкан жогорку дисперстүү оксиддерди алуу жана аларды өсүмдүктөрдүн өсүшү жана өнүгүшү үчүн стимуляторлор катары практикалык колдонуу мүмкүнчүлүгүн аныктоо болуп саналат.

Abstract

An acute problem of modern agriculture is the lack of safe and effective preparations of biologically available iron. Iron deficiency in plants causes a disease accompanied by growth inhibition, which leads to a decrease in yield and nutritional value of agricultural products. To correct this disease, either soluble iron salts are used, which are ineffective in low doses and toxic in high doses, or synthetic chelates (Fe-EDTA, Fe-DTPA, Fe-EDDGA and others). Minimization of the impact of chemicals on agroecosystems can be achieved by replacing environmentally aggressive agrochemicals with safe analogs obtained from natural materials. Promising raw materials for obtaining such materials are humic substances (HS). The aim and objectives of the study are to obtain iron-containing humic preparations presented in the form of iron humates, as well as highly dispersed oxides stabilized by humic substances, and to determine the possibility of their practical use as stimulants for plant growth and development.

Ачык сөздөр: гуминдик заттар, темир препараттары, синтетикалык хелаттар, биожеткиликтүү темир препараттары, биотестация, токсикологиялык сыноо

Keywords: humic substances, iron preparations, synthetic chelates, bioavailable iron preparations, biotesting, toxicological testing

Введение

Для оценки биологической активности веществ, обладающих способностью оказывать влияние на рост и развитие растений, используют различные методы тестирования. Одним из наиболее распространенных является *вегетационный* метод, применяемый в растениеводстве, физиологии, селекции, земледелии, почвоведении, агрохимии и экологии (Мокронос, 1994). При проведении биотестирования данным способом тест-культуры помещают в небольшие вегетационные сосуды и проводят наблюдение за развитием растений, продолжительность которого зависит от целей эксперимента. Вегетационный метод, в отличие от полевого, позволяет поддерживать одинаковые внешние условия, такие как освещение, температуру, корневое питание и обеспечение растений влагой, и определить значимость отдельных факторов роста в жизни растений.

К достоинствам вегетационного метода относятся простота аппаратного оформления, а также возможность непрерывного проведения работ вне зависимости от сезона. В связи с тем, что нельзя ограничиваться данными полевых опытов, относящихся только к одному сезону, один и тот же полевой опыт необходимо повторять несколько лет подряд. При помощи вегетационного метода достоверные результаты можно получить за один-два года.

Цель исследования. Целью данной статьи является представление исследования биологической активности соединений Fe-ГВ методом водных культур на растениях пшеницы.

Материалы и методы: в данной работе нами был использован вегетационный метод в варианте водных культур. Водные культуры широко используются для самых разнообразных физиологических исследований, в частности, для изучения основных процессов поглощения минеральных элементов растениями.

Как уже говорилось выше, у растений существует два основных способа поглощения железа, называемые стратегиями I и II (Siélichi et al., 2008). Растения со стратегией I, к которым относятся все двудольные и однодольные, кроме мятликовых, способны снижать значение pH в области ризосферы, что способствует восстановлению железа из Fe(III) до Fe(II). Поступление в клетку осуществляется путём связывания с железовосстанавливающими белками, ассоциированными с клеточными мембранами.

В нашей работе в качестве тест-объектов использовали растения мягкой пшеницы, которая является представителем стратегии II поглощения железа. Так как в мы изучали биологическую доступность железа в составе различных препаратов, необходимо было создать условия, в которых растения испытывали бы дефицит данного микроэлемента. В экспериментах с водными культурами (гидропоникой) контрольные варианты выращивали на питательной среде, содержащей все компоненты, кроме железа, а в остальных вариантах в питательные среды железо вносили в виде исследуемых препаратов. Для предотвращения попадания соединений железа из других источников, питательные среды готовили на высокоочищенной воде с использованием в качестве источников макро- и микроэлементов солей с квалификацией чистоты «х.ч.» и «ч.д.а.».

В качестве контроля при проведении опытов с водными культурами использовали питательную среду без соединений железа, а в качестве положительного контроля коммерческого хелата Fe(III)– Fe-ЭДДА.

Исследование биологической активности по отношению к растениям, испытывающим дефицит железа, проводили для препаратов Fe–ГК, Fe–ФК и Fe–ГКм. В качестве количественных показателей, указывающих на эффективность исследуемых препаратов

железа, использовали длину и массу корней и побегов. Для характеристики функционального состояния растений использовались такие параметры, как содержание хлорофилла в листьях и эффективность фотосинтеза. О биодоступности железа судили по содержанию железа в листьях. Эти характеристики позволяли определить эффективность применения исследуемых препаратов для устранения дефицита железа.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи: 1) Получить и описать характеристические особенности прекурсоров для синтеза железосодержащих биологически активных препаратов. 2) Разработать способы получения растворимых соединений железа с гуминовыми веществами. 3) Разработать способы целенаправленного синтеза наногибридных композитов на основе гетита (оксигидроксида железа α -FeOOH) и углеродсодержащих органических веществ. 4) Провести комплексное исследование препаратов современными методами анализа и определить формы железа в синтезированных препаратах. 5) Оценить токсичность гуматов железа и нанокompозитов железа с гуминовыми веществами. 6) Охарактеризовать биологическую активность полученных железосодержащих препаратов.

Впервые идентифицированы основные формы присутствия железа в составе гуминовых матриц в виде: (а) ионов, координационно связанных с гуминовыми лигандами; (б) высокодисперсных частиц оксигидроксида железа, стабилизированных гуминовыми веществами. Впервые получены наногибридные композиты гетита (α -FeOOH) с углеродсодержащими органическими веществами (активированным углем, гуминовыми кислотами). Определена токсичность и исследована биологическая активность синтезированных железосодержащих препаратов.

Практическая значимость полученных результатов. Сформулированные в работе теоретические подходы и практические рекомендации могут быть использованы для разработки технологий получения железо - гуматных препаратов, заменяющих синтетические хелатные комплексы и направленных на минимизацию воздействия химических производств и реагентов на окружающую среду. Описанные в работе способы синтеза железосодержащих наногибридных композитов и результаты исследования их свойств имеют важное значение для создания полифункциональных материалов, в том числе магнитоуправляемых. Результаты оценки биодоступности железа в составе синтезированных препаратов для растений могут послужить основой для разработки оптимальных способов применения гуминовых микроудобрений.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование биологической активности соединений Fe-ГВ методом водных культур на растениях пшеницы. Для исследования биологической активности соединений железа с ГВ в качестве контроля использовали приготовленную на MQ питательную среду Кнопа без железа, в качестве положительного контроля – Fe-ЭДЦА. В табл. 1. приведены результаты, демонстрирующие влияние гуматов железа на длину и массу побегов пшеницы в условиях железодефицитного хлороза, а в следующей табл. 2.

Таблица 1. Влияние препаратов на длину и массу побегов пшеницы

Вариант	Длина побега (средняя величина)		Масса побега (средняя величина)	
	L, мм	%, от контроля	M, мг	%, от контроля

Контроль	22	100	18	
Гумат калия	29	131,8	28	155,5
Fe-ЭДДА	33	150,0	33	183 1
Fe-ГК	34	154,5	34	188 7
Fe-ФК	34	154,5	30	166 5
Fe-ГКм	33	149,9	32	177 6

Таблица 2. Влияние на длину и массу корней пшеницы

Варианты	Длина корня (средняя величина)		Масса корня (средняя величина)	
	L, мм	% от контроля	M, мг	% от контроля
Контроль	40	100	20	100
Гумат калия	44	110	22	110
Fe-ЭДДА	46	115	26	120
Fe-ГК	48	120	29	145
Fe-ФК	46	115	28	140
Fe-ГКм	48	120	30	150
Fe АУ	46	120	127	126

Как видно из представленных данных (таблица 1, таблица 2), влияние исследуемых препаратов на длину побегов было менее значительным, тогда как масса побегов увеличивалась в 1,4-1,5 раз. Влияние железосодержащих препаратов на корневую систему пшеницы было значительно менее выраженным: значение длины корней мало отличалось от контрольных вариантов. Выраженную стимуляцию накопления биомассы корней наблюдали в вариантах с внесением Fe-ГК и Fe-ГКм, что может быть обусловлено завышенным содержанием азота в этих препаратах.

Пониженная отзывчивость пшеницы к внесению железосодержащих препаратов может быть связана, прежде всего, с особенностями поступления в них железа. В частности, это может быть обусловлена также более медленным переходом пшеницы от гетеротрофного (за счет запасных веществ в зерновке) к автотрофному питанию.

Так как запас питательных веществ в эндосперме однодольных растений (пшеница) значительно выше, чем у двудольных, первые могут в течение достаточно продолжительного времени, 10-14 дней, питаться веществами, накопленными в зерновке. Кроме того, для пшеницы характерен подземный тип прорастания, при котором растения в течение длительного времени могут питаться запасом из зерновки (Кузнецов, 2006), что делает их гораздо менее чувствительными к недостатку в среде питательных элементов вообще и железа в частности.

Рассчитанное значение отношения хлорофиллов a/b для пшеницы в контрольном варианте составило 3,28. (таблица 3). Это свидетельствует о невысоком угнетении пшеницы в условиях железodefицитного хлороза. Отсюда невысокая отзывчивость растений пшеницы.

При внесении железосодержащих препаратов в питательную среду пшеницы содержание хлорофилла *a* в растениях возрастает всего в 1,34–1,44 раз. В связи с невысокой отзывчивостью пшеницы, статистически достоверная ($P=0,05$) разница между эффективностью коммерческого хелата железа и синтезированными органо- неорганическими соединениями небольшая.

Таблица 3. Влияние хелата Fe-ЭДДГА, соединений Fe-ГВ и гумата калия на содержание хлорофиллов *a* и *b* в растениях пшеницы и их соотношение

Вариант	Содержание хлорофилла <i>a</i>		Содержание хлорофилла <i>b</i>		a/b
	мг/г	% от контроля	мг/г	% от контроля	
Контроль	2,20	100	0,67	100	3,28
Гумат калия	3,04	137	0,90	134	3,37
Fe–ЭДДГА	3,06	138	0,85	127	3,60
Fe–ГК	3,48	156	0,95	141	3,66
Fe–ФК	3,44	152	0,94	140	3,66
Fe–ГКм	3,45	156	0,96	143	3,59
Fe АУ	2,89	131	0,82	122	3,52

В качестве параметра, характеризующего функциональное состояние растений, оценивают эффективность фотосинтеза хлорофилла по скорости электронного транспорта и квантового выхода регулируемого рассеяния энергии. Индукция флуоресценции хлорофилла (эффект Каутского) возникает при сильном освещении фотосинтезирующего объекта после его предварительного пребывания в темноте или на слабом свете. Общий вид кривой индукции флуоресценции приведен на рисунке 4 (Орехов, 2013).

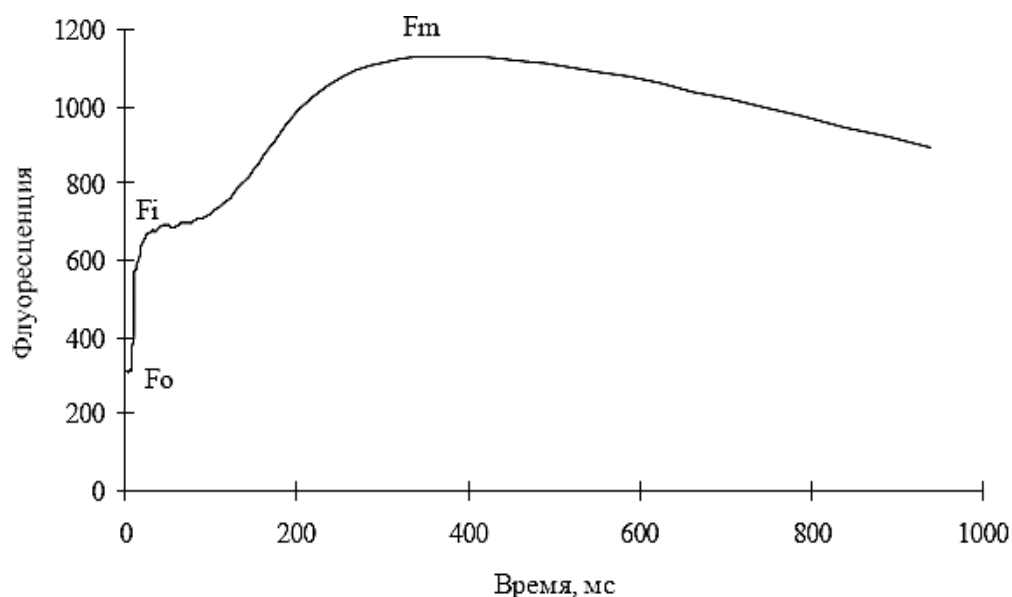


Рисунок 1. Кривая индукции флуоресценции (эффект Каутского). Fo - минимальная флуоресценция, Fv - флуоресценция перегиба, Fm – пиковая флуоресценция

Относительный выход переменной флуоресценции, характеризующий квантовую эффективность первичной фотосинтетической реакции, рассчитывали как отношение F_v/F_m , где $F_v = F_m - F_0$. Параметр F_0 (минимальная интенсивность) соответствует флуоресценции, когда все акцепторы (переносчики) электронов в электронтранспортной цепи (ЭТЦ) находятся в окисленном состоянии. В условиях насыщающего освещения интенсивность флуоресценции быстро возрастает и достигает своего максимального значения (F_m), когда все акцепторы в ЭТЦ восстановлены. Возрастание флуоресценции с F_0 до F_m характеризует общее количество акцепторов, которые могут принимать электрон, то есть могут быть восстановлены. Интенсивность флуоресценции перегиба F_v определяется количеством акцепторов ЭТЦ, которые могут быть восстановлены, но не способны передавать электроны по цепи. У растений в оптимальных условиях F_v/F_m обычно составляет 0,75-0,78. Мертвые клетки характеризуются отношением F_v/F_m , равным нулю.

Данные по влиянию исследованных препаратов на накопление железа растениями пшеницы представлены ниже (таблица 4).

Таблица 4. Влияние хелата Fe-ЭДДА, соединений Fe-ГВ и гумата калия на переменную флуоресценцию хлорофилла листьев пшеницы в условиях железodefицитного хлороза

Вариант	F_v/F_m	Стандартное отклонение	% от контроля
Гумат калия	0,70	0,02	102
Fe-ЭДДА	0,72	0,01	105
Fe-ГК	0,76	0,03	112
Fe-ФК	0,74	0,05	109
Fe-ГКм	0,760	0,04	112
Fe АУ	0,70	0,03	100

Как видно из данных табл. 5, исследуемые препараты способствуют повышению содержания железа в тканях растений. Использование Fe-ЭДДА вызывало повышение количества железа до 241 % от контроля, аналогичный показатель установлен для Fe-ФК, а для ГК он составляет 267 %.

Таблица 5. Влияние хелата Fe-ЭДДА, соединений Fe-ГВ и гумата калия на накопление железа в растениях пшеницы в условиях железodefицитного хлороза

Вариант	Содержание железа	
	мг/100 г	% от контроля
Контроль	3,4	100
Гумат калия	5,6	164
Fe-ЭДДА	8,2	241
Fe-ГК	9,1	267
Fe-ФК	8,2	241
Fe-ГКм	8,4	247
Fe АУ	5,4	158

Известна недостаточно высокая отзывчивость пшеницы на условия железодефицитного хлороза, которая обусловлена биологическими особенностями пшеницы, такими как большая продолжительность стадии гетеротрофного питания, меньшая потребность в железе и др. Несмотря на это, на основании проведенных экспериментов можно сделать вывод о положительном влиянии всех синтезированных водорастворимых железосодержащих гуминовых препаратов (Fe–ГК, Fe–ФК, Fe–ГКм) на железодефицитный хлороз.

Тестирование нанокompозита «гетит/ГК» (G–HA). Для экотоксикологической оценки образцов наногибридного композита Гетит/ГК последний использовали в виде водных суспензий в следующих концентрациях (%): 0,001, 0,01, 0,1, 1,0. Водные суспензии готовили в дистиллированной воде или в соответствующей культуральной среде в соответствии с требованиями стандартных методов биотестирования.

Биологические испытания **G–HA** проводились с использованием методов биотестирования, рекомендованных для экологического контроля. В «батарею» биотестов вошли стандартизированные тест-культуры организмов разной таксономической принадлежности с двумя трофическими уровнями (автотрофы и гетеротрофы) - водоросли, высшие растения, простейшие. Биотестирование с использованием зеленой протококковой водоросли *Scenedesmus quadricauda* учитывало изменение уровня флуоресценции хлорофилла и количество клеток водорослей через 72 часа выдерживания водорослей в среде Успенского-1 без **G–HA** (контроль) и с добавкой **G–HA** по методике, зарегистрированной в Российском федеральном регистре средств измерений - ФР.1.39.2007.03223. Среда Успенского-1 для водорослей содержала (г/л): KNO_3 - 0.025 MgSO_4 - 0.025; KH_2PO_4 - 0.025; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 0.1; K_2CO_3 - 0.0345; цитрат железа III водный ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}\cdot n\text{H}_2\text{O}$) 0.002. Параметры флуоресценции измеряли с помощью импульсного флуориметра Water-PAM (Walz, Германия). Количество клеток в суспензиях *Scenedesmus coenobia* измеряли прямым подсчетом под микроскопом в камере Горяева.

Биотестирование показало, что микроводоросль *Scenedesmus quadricauda* оказалась весьма чувствительной к присутствию композита **G–HA** (рис. 2). Подавление роста клеток *Scenedesmus* наблюдалось уже при минимальной концентрации 0,001%. Концентрация, вызывающая снижение параметров флуоресценции, была выше 0,01%.

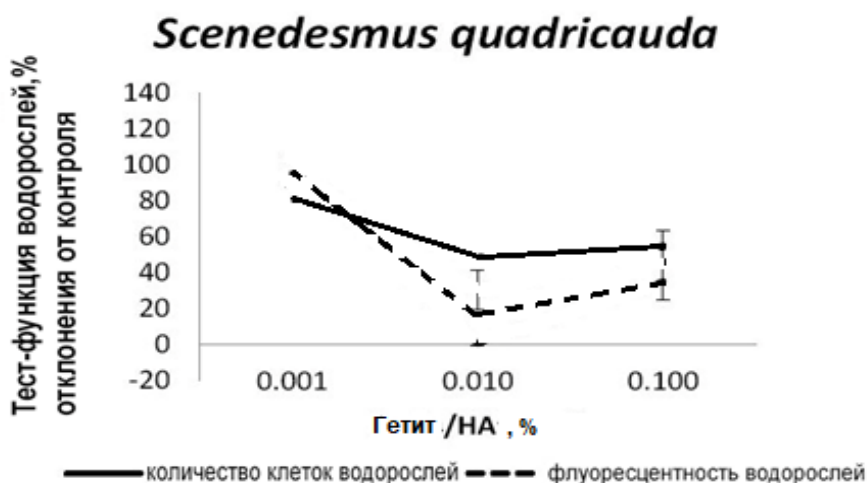


Рисунок 2. Влияние препарата **G–HA** на изменение увеличения количества клеток и интенсивности флуоресценции в клетках зеленой водоросли *Scenedesmus quadricauda*

Биологическую активность препарата проверяли также на семенах высших растений горчицы белой *Sinapis alba* L. Длину корней и ростков проростков горчицы сравнивали после 96-часовой выдержки при 24°C в пластиковых контейнерах в темноте. Развитие корней у проростков горчицы белой *Sinapis alba* заметно стимулировалось низкими концентрациями нанокompозита (0,001% и 0,01%), а 0,1 и 1,0% для них были фатальными (рис. 3).

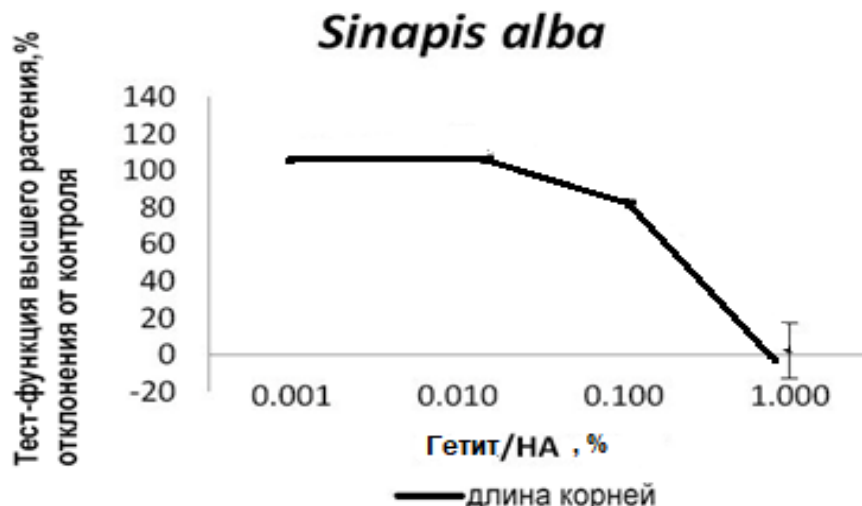


Рисунок 3. Влияние препарата G-НА на рост корней горчицы белой *Sinapis alba* seedlings

Биотестирование с простейшими проводили на примере выживаемость *Paramecium caudatum* Ehrenberg после 24-часовой инкубации с нанокompозитом и без него в соответствии с методом FR.1.39.2006.02506 (Методика определения токсичности отходов, почв, осадков сточных, поверхностных и грунтовых вод методом биотестирования с использованием равноресничных инфузорий *Paramecium caudatum* Ehrenberg, 2006). Подсчет проводили в микроаквариумах на стереоскопическом микроскопе МБС-2 (ЛЗОС, Россия, 2008 г.). В тест-системе парамеций оценены только две самые низкие дозы нанокompозита (0,001% и 0,01%). Растворы с концентрацией 0,1%, и 1,0% слишком темными, чтобы отличить парамеции от окружающего раствора. Концентрации 0,001% и 0,01% композита гетит/ГК были нетоксичными для культуры инфузории *Paramecium caudatum*. Количество обработанных особей превысило контроль при обеих концентрациях на 20%, что свидетельствует о некоторой стимуляции развития парамеций, которая может быть связана с повышением питательной ценности растворов гуминовых кислот для парамеций. Кроме того, рост парамеции может быть вызван микромагнитными полями, индуцированными наночастицами гетита (Абдуллаева, 2025).

Тестирование нанокompозита гетит/активированный уголь (GC)

Водные суспензии трех видов исследуемых препаратов — гетита, активированного угля и синтезированного ex situ нанокompозитного препарата, протестированные в двух тест-системах, различались по токсичности и биодоступности для разных тест-культур гидробионтов (таблица 6). Тест-культура простейших *P. caudatum* оказалась более чувствительной к исследуемым образцам, поскольку пороговые концентрации препаратов, как максимальные безвредные (недействующие) концентрации МБК10, так и действующие полуэффективные ЭК50 для *P. caudatum* были на 1–2 порядка меньше, чем для микроводорослей.

Таблица 6. Максимальные безвредные (недействующие) и полужффективные (действующие) концентрации препаратов для тест-культур простейших *Paramecium caudatum* и микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* МБК₁₀ и ЭК₅₀ (%)

Тест-функция	Гетит (G)		Активированный уголь (C)		Нанокompозит на основе гетита и активированного угля (G–C) полученный <i>ex-situ</i>	
	МБК ₁₀	ЭК ₅₀	МБК ₁₀	ЭК ₅₀	МБК ₁₀	ЭК ₅₀
Выживаемость <i>Paramecium caudatum</i>	0.0003	0.075	0.0005	0.078	0.0014	0.17
Флуоресценция хлорофилла <i>Scenedesmus quadricauda</i>	0.10	0.44	0.064	0.74	0.011	0.10

При этом у препаратов активированного угля и гетита показатели токсичности по отношению к простейшим оказались сходными (МБК₁₀ – 0.0003 и 0.0005%, ЭК₅₀ — 0.078 и 0.075% соответственно). Судя по полужффективной действующей концентрации, нанокompозит оказался менее токсичным: ЭК₅₀ – 0.17%. Снижение биодоступности синтезированного нанокompозитного препарата по отношению к простейшим скорее всего связано с его микроструктурными характеристиками. Однако низкое значение безвредной концентрации МБК₁₀ - 0.0014% свидетельствует о наличии у него биоцидного действия по отношению к одноклеточным простейшим.

По отношению к более сложно организованным биологическим организмам *S. quadricauda* исходные препараты не проявляют столь высокую токсичность, как к простейшим *P. caudatum*. Полужффективная концентрация для гетита ЭК₅₀ — 0.44, для активированного угля — 0.74 %. Однако значения пороговых концентраций токсичности нанокompозита в тест-системе с микроводорослями оказались более низкими. Токсичность к *S. quadricauda* исследованных препаратов снижается в ряду гетит > нанокompозит > активированный уголь. Важно подчеркнуть, что даже в присутствии высоких доз нанокompозита не наблюдалось заметного подавления развития микроводорослей.

Тестирование гибридных нанокompозитов, содержащих интеркалированный в угольную матрицу гетит и ГК (GC–HA)

Биологическую активность гибридных нанокompозитов железа оценивали с использованием метода удлинения корня растения (*S. alba*), результаты представлены на рис. 4.4. Суспензии поддерживали в биологически и экологически приемлемом диапазоне pH 6–7. Статистический анализ с использованием однофакторного дисперсионного анализа выявил весьма значимую разницу между средними значениями групп (значение $p < 0,05$).

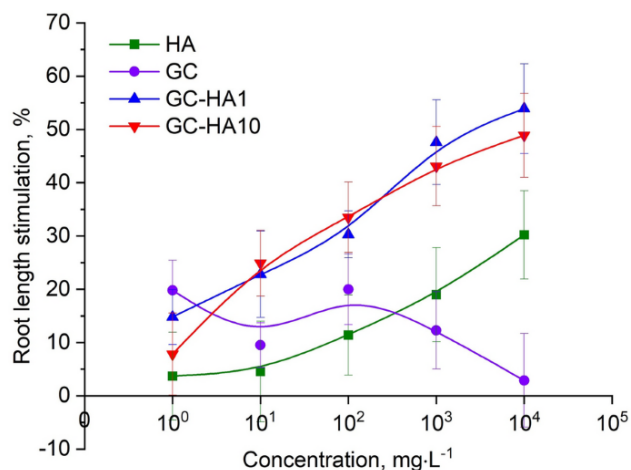


Рисунок 4. Зависимость «доза-эффект» длины корней растений для разных образцов. Все концентрации номинальные

Фитоанализ выявил некоторую волнообразную стимуляцию удлинения корней растений при внесении препарата GC в низких концентрациях (10–102 мг/л. Однако увеличение концентрации GC до 104 мг/л приводит к уменьшению длины корня растения. Кроме того, были выявлены зависимые от концентрации токсические эффекты наночастиц оксида железа, связанные с окислительным стрессом. HA, известная своими стимулирующими рост растений свойствами [6] (Моуга, 2023), стабильно оказывала стимулирующее влияние на рост длины корней, достигая до 30% по сравнению с контролем. Наибольшая стимуляция длины корней наблюдалась для GC-HA1 и GC-HA10 по сравнению с HA и GC по отдельности. Примечательно, что, несмотря на увеличение на порядок концентрации HA в этих образцах, изменения биоактивности не наблюдалось. Это позволяет предположить, что усиленная стимуляция роста корней горчицы гибридными комплексами GC-HA1 и GC-HA10 по сравнению с GC и только HA, вероятно, обусловлена влиянием ионов Fe, в том числе их присутствием в составе водорастворимых комплексов с HA. Для проверки предложенного механизма была использована УФ-Вид-спектроскопия для исследования кинетики и концентрации Fe^{2+} и Fe^{3+} , выделившихся из образцов. С помощью УФ-видимой спектроскопии исследованы кинетика и концентрация Fe^{2+} и Fe^{3+} , выделившихся из образцов (рис. 5). Выход Fe^{2+} и Fe^{3+} определяли за 96 ч при pH 6,5. Данные мессбауэровской спектроскопии подтвердили наличие Fe^{2+} в образцах. Концентрации ионов железа на грамм пробы были пересчитаны.

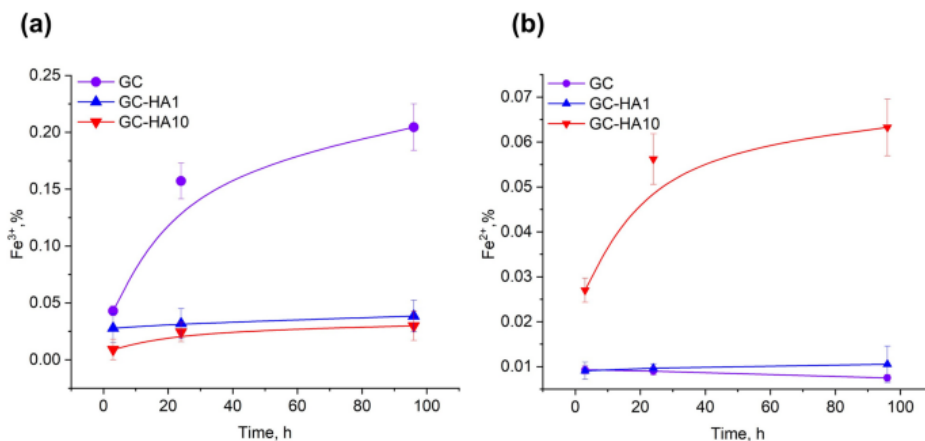


Рисунок 5. (а) Кинетика высвобождения ионов Fe^{3+} и (б) Fe^{2+} из GC с HA и без нее (начальная концентрация 1 и 10 г/л)

Комплексометрическое титрование роданидом калия для Fe^{3+} и о-фенантролином калия для Fe^{2+} показало, что как GC, так и НА-модифицированные комплексы высвобождают как Fe^{2+} , так и Fe^{3+} . Однако концентрация ионов, выделяемых образцами, варьируется. Наночастицы GC выделяли самую высокую концентрацию Fe^{3+} и Fe^{2+} по сравнению с модифицированными НА. Кинетика общего высвобождения ионов различалась во всех образцах. Примечательно, что образец GC демонстрировал непрерывное растворение с течением времени, не сумев достичь равновесия в течение 96 часов. В течение первого часа наблюдалось быстрое начальное высвобождение Fe^{3+} и Fe^{2+} из образца GC, за которым последовало снижение концентрации. Это наблюдение позволяет предположить возможную обратную сорбцию ионов или образование гидроксидов железа (Handler et al., 2009). Комплексы GC-НА1 и GC-НА10 демонстрировали устойчивое низкоуровневое высвобождение Fe^{3+} и Fe^{2+} в течение 96 часов. Несколько сниженное обнаруживаемое высвобождение ионов Fe^{3+} и Fe^{2+} для образца GC-НА10, вероятно, связано с образованием множественных поверхностных связей COOH-групп НА и OH-групп поверхности GC посредством лигандного обмена (Dzhardimalieva et al., 2011).

Скорость растворения исследованных образцов находится в пропорциональной зависимости от площади поверхности частиц. Это наблюдение согласуется с уравнением Нойеса-Уитни (Noyes, 1897) и уравнением Оствальда-Фрейндлиха (Mihriyan, 2007), оба из которых предполагают, что меньшие наночастицы растворяются быстрее, чем более крупные.

Биологическая активность гибридных комплексов, содержащих оксиды железа в угольной матрице наряду с ГК, регулируется сложными механизмами, которые могут меняться в зависимости от конкретных условий окружающей среды. В наших модельных экспериментах мы оценивали влияние подвижности Fe на рост растений, измеряя выход ионов Fe из исследуемых образцов GC-НА1 и GC-НА10 комплексометрическим методом. Однако низкие процентные содержания Fe^{3+} и Fe^{2+} , определенные в нашем исследовании, вероятно, являются результатом отличия условий экстракции от реальных условий прорастания семян. В частности, мы использовали тиоцианат калия для Fe^{3+} и о-фенантролин калия для Fe^{2+} в дистиллированной воде, тогда как реальные корневые экссудаты содержат органические кислоты, способные десорбировать железо из гуминовых комплексов. Эти органические кислоты обладают высокими константами устойчивости комплексов железа, что позволяет им эффективно вытеснять металл из хелатирующих центров HS. Поэтому экстракционная способность тиоцианата калия и о-фенантролина калия может быть существенно ниже, чем у корневых экссудатов в природных средах.

В предыдущих исследованиях (Bondarenko et al. (2020), показано, что ионы Fe в определенных концентрациях могут запускать реакцию Фентона, приводящую к окислительному стрессу и торможению роста растений. Как внеклеточные, так и внутриклеточные активные формы кислорода (АФК) могут генерироваться наночастицами на основе железа. При этом внеклеточные АФК активируют внутриклеточные (Von Moos and Slaveykova, 2014). Повышенные уровни АФК вызывают окислительное повреждение и токсичность, о чем свидетельствует повышение уровня малонового диальдегида и снижение экспрессии каталазы и глутатиона. Влияние АФК на активность супероксиддисмутазы варьируется в разных исследованиях (Li et al., 2009). Недавно Чайтавиват и др. (Chaithawiwat et al. 2016) продемонстрировали, что мутанты *E. coli*, лишенные генов защиты от окислительного стресса, были более восприимчивы к нанонульвалентному железу, по сравнению с диким типом, подчеркивая решающую роль АФК-опосредованного

окислительного стресса в механизме токсичности наночастиц на основе железа на молекулярном уровне. Помимо своих негативных эффектов АФК также играют значительную положительную роль в выходе из состояния покоя, передаче сигналов прорастания семян, защите от патогенов и регуляции внутренних клеточных механизмов в ответ на динамику внешней среды. Существует определенное «окислительное окно», которое позволяет клеточным событиям разворачиваться в последовательном порядке для прорастания семян, если АФК поддерживаются в определенном диапазоне (Anand A. et al. 2019). Более того, было показано (Shelar A. et al. 2023), что наноматериалы способствуют прорастанию семян за счет образования нанопор в семенных оболочках, введения активных форм кислорода (АФК), увеличения активности ферментов в местах разложения крахмала и введения АФК в семенную оболочку.

Таким образом, поскольку биоактивность GC-NA1 не отличалась от биоактивности GC-NA10, хотя последний выделял значительно больше ионов двухвалентного железа, приобретение железа проростками с этой точки зрения не представляется важным. Кроме того, необходимы дополнительные данные о благотворном влиянии железа на прорастание семян. С другой стороны, сравнивая данные ЭДС и фитоанализа, можно сделать вывод о сходстве GC-NA1 и GC-NA10 с точки зрения зависимости дзета-потенциала от pH. Данные показывают более высокую коллоидную стабильность наночастиц, модифицированных НА при pH 6–7, по сравнению с GC. Кроме того, можно ожидать дополнительной стерической стабилизации наночастиц GC-NA1 и GC-NA10 по сравнению с GC. Таким образом, в целом изученные GC-NA1 и GC-NA10 продемонстрировали схожую биологическую активность и коллоидную стабильность. Что касается других свойств (РФА, СЭМ, мессбауэровские и др.), то GC-NA1 и GC-NA10 отличались друг от друга. Поэтому логичнее всего искать объяснение наблюдаемой биологической активности в коллоидных свойствах исследуемых наночастиц. Более высокую стабильность наночастиц с НА при pH 6–7 можно рассматривать как основную причину их более выраженной биологической активности. Необходимо предложить дальнейшее изучение агрегации синтезированных НЧ и генерации АФК, а также их связи с биологической активностью.

Выводы

Железосодержащие препараты показали высокую биологическую активность, оказывая влияние на длину побегов и массу растений на развитие корневой системы, на железодефицитный хлороз. Замечена пониженная отзывчивость пшеницы к внесению железосодержащих препаратов может быть связано с медленным переходом пшеницы от гетеротрофного (за счет запасных веществ в зерновке) к автотрофному питанию.

Биологическую активность препарата проверяли на семенах высших растений горчицы белой *Sinapis alba* L. А также, провели биотестирование с простейшими *Paramecium caudatum* Ehrenberg. Развитие корней у проростков горчицы белой *Sinapis alba* заметно стимулировалось низкими концентрациями нанокompозита G-NA (0,001% и 0,01%), а 0,1 и 1,0% для них были фатальными. Концентрации 0,001% и 0,01% композита G-NA были нетоксичными для культуры инфузории *Paramecium caudatum*. Количество обработанных особей превысило контроль при обеих концентрациях на 20%, что свидетельствует о некоторой стимуляции развития парамеций, которая может быть связана с повышением питательной ценности растворов гуминовых кислот для парамеций. Кроме того, рост парамеции может быть вызван микромагнитными полями, индуцированными наночастицами гетита.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

АУ - активированный уголь

БПК - бензолполикарбоновые кислоты

ГВ – гуминовые вещества

ГК – гуминовые кислоты

ИК спектроскопия – инфракрасная спектроскопия

КМК – критическая мицеллярная концентрация

ФК – фульвокислоты

G-НА – гетит/гуминовые кислоты

GS- НА – интеркалированный в угольную матрицу гетит и гуминовые кислоты

GPC – гельпроникающая хроматография

Fe-ГВ – железосодержащие гуминовые вещества

Fe-ЭДТА - этилендиамин-N, N, N', N' - тетраацетат железа

Fe-ДТПА - диэтилентриамин - N, N, N', N'', N''' - пентаацетат железа

Fe-ЭДДГА - этилендиамин - N, N' – ди (2-гидроксифенилацетат) железа

Fe-ЭДДГМА – этилендиамин-N, N'-ди (2-гидрокси-4-метилфенилацетат) железа

Fe-ЭДДГСА – этилендиамин-ди (2-гидрокси-5-сульфофенилацетат) железа

Fe-ЭДДОА – этилендиаминдиоксифенилацетат железа

Литература

1. Абдуллаева, Ж., Абдураупова, Н., Жоробекова, М., Матураимов, А. (2025). Применение наночастиц в лечении ожоговых ран. *Вестник Ошского государственного университета*, (3), 15–31. https://doi.org/10.52754/16948610_2025_3_0_2
2. Кузнецов, В.В. (2006). *Физиология растений*. М.: Высш. шк.
3. Методика определения токсичности отходов, почв, осадков сточных, поверхностных и грунтовых вод методом биотестирования с использованием равноресничных инфузорий *Paramecium caudatum Ehrenberg*. (2006) ФР.1.39.2006.02506.
4. Мокроносов, А.Т. (1994). *Малый практикум по физиологии растений*. М: МГУ.
5. Орехов, Д.И. Калабин, Г.А. (2013). Флуоресцентный анализ как инструмент оценки физиологического состояния деревьев в различных условиях загрязнения в г. Москве. *Вестник РУДН Серия экология и безопасность жизнедеятельности*. 5, с.1–15.
6. Anand, A. et al. (2019). Hydrogen peroxide signaling integrates with phytohormones during the germination of magne-toprimed tomato seeds. *Sci Rep.*, 9, P. 8814.
7. Bondarenko, L. et al. (2020). Effects of humic acids on the ecotoxicity of Fe₃O₄ nanoparticles and Fe-ions: Impact of oxidation and aging. *Nanomater*, 10. P. 1-18.
8. Chaithawiwat, K. et al. (2016). Role of oxidative stress in inactivation of *Escherichia coli* BW25113 by nanoscale zero-valent iron. *Sci Total Environ*, 565, P. 857–62.
9. Dzhardimalieva, G.I. et al. (2011). Metal containing nanoparticles with core-polimer shell structure. *Colloid Journal*, 4. P.458 – 466.
10. Handler, R.M. et al. (2009). Atom exchange between aqueous Fe (II) and goethite: An Fe isotope

tracer study. *Environ Sci Technol*, 43. P. 1102–7.

11. Li H. et al. (2009). Effects of waterborne nano-iron on medaka (*Oryzias latipes*): antioxidant enzymatic activity, lipid peroxidation and histopathology. *Ecotoxicol Environ Saf*, 72, P. 684–92.
12. Mihranyan, A. (2007). Solubility of fractal nanoparticles. *Surf Sci*, 601, 315–9.
13. Moura, O.V.T. et al. (2023). Humic foliar application as sustainable technology for improving the growth, yield, and abiotic stress protection of agricultural crops a review. *J Saudi Soc Agric Sci.*, P. 493-513.
14. Noyes, A.A. (1897). The rate of solution of solid substances in their own solutions. *J. Am Chem Soc.*, 19, P. 930–4.
15. Shelar, A. et al. (2023). Recent advances in nano-enabled seed treatment strategies for sustainable agriculture: challenges, risk assessment, and future perspectives. *Nano-Micro Lett*, 15, P. 54.
16. Siéliéchi, J-M. et al. (2008). Changes in humic acid conformation during coagulation with ferric chloride: Implications for drinking water treatment. *Water Res.*, 42. P. 2111–23.
17. Von Moos, N., Slaveykova, V.I. (2014). Oxidative stress induced by inorganic nanoparticles in bacteria and aquatic microalgae-state of the art and knowledge gaps aging. *Nanotoxicology*, 20(3), 8, P. 605–630.