

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова

праця на правах рукопису

РЯБОВОЛ ВАСИЛЬ МИКОЛАЙОВИЧ

УДК 613.6:661.8:61-492.2-022.513.2

ДИСЕРТАЦІЯ

ПОРІВНЯЛЬНА ТОКСИКОЛОГО-ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА І ПРОФІЛАКТИКА
НЕСПРИЯТЛИВОЇ ДІЇ НАНОПОРОШКІВ ДІОКСИДУ ТИТАНУ ТА
КОМПОЗИТУ НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ З НАНОСРІБЛОМ В УМОВАХ
ВИРОБНИЦТВА

222 Медицина

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ В.М. Рябовол

Наукові керівники: Яворовський Олександр Петрович, доктор медичних наук, професор, академік НАМН України; Курченко Андрій Ігорович, доктор медичних наук, професор

Київ – 2023

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	5
АНОТАЦІЯ.....	6
ВСТУП	26
РОЗДІЛ 1. ГІГІЄНИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СУЧАСНИХ ТЕХНОЛОГІЙ СИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ ТА ЇХ СПОЛУК, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ І ТОКСИКОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАНОМАТЕРІАЛІВ (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	36
1.1. Технології одержання, морфологічні і фізико-хімічні характеристики наночастинок металів та їх неорганічних сполук.....	36
1.2. Токсикологічна характеристика впливу наночастинок металів та їх сполук на організм лабораторних тварин, людини, інші біологічні об'єкти.....	40
1.3. Гігієнічна оцінка умов праці та стан здоров'я операторів синтезу наноматеріалів.....	50
1.4. Заходи профілактики шкідливого впливу наночастинок металів на організм працівників.....	58
РОЗДІЛ 2. ПРОГРАМА, ОБСЯГ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	66
РОЗДІЛ 3. ГІГІЄНИЧНА ОЦІНКА ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ТА ФАКТОРІВ ВИРОБНИЧОГО СЕРЕДОВИЩА ПРИ ОТРИМАННІ НАНОПОРОШКІВ ДІОКСИДУ ТИТАНУ ТА КОМПОЗИТУ НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ З НАНОСРІБЛОМ.....	76
РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ТА СПЕКТРАЛЬНИХ ХАРАКТЕРИСТИК НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ ТА	

КОМПОЗИТНОГО МАТЕРІАЛУ НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ З НАНОСРІБЛОМ.....	91
РОЗДІЛ 5. ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НАНОПОРОШКІВ ДІОКСИДУ ТИТАНУ ТА КОМПОЗИТУ НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ З НАНОСРІБЛОМ.....	103
5.1. Встановлення параметрів гострої токсичності та вивчення характеру дії на шкіру і слизову ока нанопорошків діоксиду титану та композиту діоксиду титану з наносріблом.....	103
5.2 Вивчення особливостей розподілу титану і срібла у внутрішніх органах щурів та мишей, експонованих високими дозами наночастинок діоксиду титану та нанокомпозиту діоксиду титану з сріблом.....	109
5.3. Морфологічні аспекти прояву гострої дії нанопорошків діоксиду титану та композиту діоксиду титану з сріблом у внутрішніх органах (печінка, легені, головний мозок, серце, нирки, селезінка) лабораторних мишей	115
5.4. Дослідження впливу наночастинок діоксиду титану та діоксиду титану з сріблом на функціональну активність мононуклеарних клітин крові за продукцією цитокінів...	136
5.5. Порівняльна оцінка пошкоджуючої дії наночастинок діоксиду титану та діоксиду титану з сріблом на статеві клітини кнурів в експерименті <i>in vitro</i>	145
РОЗДІЛ 6. РОЗРАХУНОК ОБРВ НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ ТА НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ З НАНОСРІБЛОМ В ПОВІТРІ РОБОЧОЇ ЗОНИ; ОЦІНКА РИЗИКУ НЕГАТИВНОГО ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ ОПЕРАТОРА.....	154

РОЗДІЛ 7. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	
ПРОВЕДЕНИХ ГІГІЄНИЧНИХ І ТОКСИКОЛОГІЧНИХ	
ДОСЛІДЖЕНЬ.....	
	162
ВИСНОВКИ.....	174
ПРОФІЛАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	178
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	180
ДОДАТКИ.....	201
ДОДАТОК А. СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ	
ДИСЕРТАЦІЇ.....	
	201
ДОДАТОК Б. ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ	
ДИСЕРТАЦІЇ.....	
	207
ДОДАТОК В. АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ.....	
	209

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

Нано-TiO ₂	– нанопорошок діоксиду титану
Нано-TiO ₂ -Ag	– нанокompозит діоксиду титану з сріблом
ІПМ	– Інститут проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича НАН України
LD ₅₀	– середньосмертельна доза
НЧ	– наночастинки
ПЕМ	– просвітлююча електронна мікроскопія
СЕМ	– скануюча електронна мікроскопія
РФА	– рентгенівський фазовий аналіз
ІЧС	– інфрачервона спектроскопія
EDX	– енергодисперсійна рентгенівська спектроскопія
КРС	– комбінаційне розсіювання світла
ІЛ-1	– інтерлейкін-1
ІЛ-4	– інтерлейкін-4
ІЛ-6	– інтерлейкін-6
TNF-α	– фактор некроза пухлини альфа
СДГ	– сукцинатдегідрогеназа
ЦХО	– цитохромоксидаза
ОБРВ	– орієнтовно безпечні рівені впливу

АНОТАЦІЯ

Рябовол В.М. Порівняльна токсиколого-гігієнічна оцінка і профілактика несприятливої дії нанопорошків діоксиду титану та композиту нанодіоксиду титану з наносріблом в умовах виробництва. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 Медицина (галузь знань 22 Охорона здоров'я). – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, 2023.

Широке використання наноматеріалів стрімко впроваджується у різні галузі економічної діяльності, включаючи біологію і медицину. В науковій літературі та електронних інформаційних джерелах є багато відомостей щодо токсичності і різних проявів біологічної дії наноматеріалів – фулеренів, карбонових нанотрубок, оксиду цинку, оксиду алюмінію, оксиду церію, золота, заліза, оксиду заліза, срібла, кобальту, лантану, свинцю та інших. Разом з тим, на етапі планування дисертаційної роботи відомості про токсичні властивості нанопорошків на основі діоксиду титану, одержаних методом термічного розкладу метатитанової кислоти, для нанодіоксиду титану були представлені обмежено, а для нанокompозитних матеріалів діоксиду титану з сріблом цілком відсутні. Токсичний вплив наночастинок металів пов'язують з їх нанорозмірністю та великою поверхневою активністю, що дозволяє їм проникати в клітини та взаємодіяти з біологічними структурами. Це може призводити до створення реактивних кисневих форм, спричинення окислювального стресу, пошкодження ДНК, руйнування клітинних мембран, порушення функції органів та тканин, запалення та імунотоксичності, а також до розвитку довготривалих наслідків, таких як рак, нейротоксичність, репродуктивні порушення та інших негативних ефектів.

Перспективними є наноматеріали на основі діоксиду титану, з високою фотокаталітичною активністю, які застосовуються для знешкодження

органічних забруднювачів, знезаражування, створення антимікробних та самоочисних поверхонь. Фотокаталітичну активність наночастинок TiO_2 можна значно підвищити шляхом модифікування нанодіоксиду титану певною кількістю наносрібла (нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$). В Інституті проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича НАН України нанопорошки на основі діоксиду титану синтезують власним оригінальним методом – термічного розкладу метатитанової кислоти.

Актуальною для здоров'я людини та збереження довкілля є проблема забезпечення безпечного виробництва і використання наноматеріалів. При виготовленні нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ під час виконання ручних операцій є ризик вдихання працівником повітря робочої зони забрудненого пиловими частинками як ультрамікроскопічного, так і нанодіапазону, а також потрапляння їх на його одяг, шкіру та слизові оболонки. Відсутність ґрунтовних знань щодо ступеня токсичності наноматеріалів та їх потенційної небезпеки для організму людини вимагає проведення відповідних гігієнічних, токсикологічних, медичних і біологічних досліджень.

За мету дисертаційного дослідження ми ставили вивчення особливостей токсичного впливу нанопорошків діоксиду титану та композиту нанодіоксиду титану з наносріблом в експерименті на лабораторних тваринах, моделях *in vitro* та наукове обґрунтування заходів профілактики їх можливої несприятливої дії на організм операторів синтезу, зокрема, визначення орієнтовно безпечних рівнів впливу цих наноматеріалів в повітрі робочої зони.

В дисертації наведено вирішення актуальної наукової проблеми гігієни праці і профілактичної медицини в цілому щодо попередження несприятливої дії нанопорошків діоксиду титану та нанокompозиту діоксиду титану з сріблом на здоров'я операторів їх синтезу.

Вперше проведено гігієнічну оцінку технологічного процесу і факторів виробничого середовища при отриманні нових нанопорошків діоксиду титану та композиту нанодіоксиду титану з наносріблом методом термічного розкладу метатитанової кислоти на багатосекційній обертовій печі в «Інституті проблем

матеріалознавства імені І.М. Францевича НАН України». Для виявлення фракцій ультра- і наночастинок у повітрі робочої зони, розроблено спеціальний метод, який дозволяв стабілізувати і утримувати наночастинок в завислому стані у глюкозо-цитратному буфері при відборі проб повітря у робочій зоні та при подальших аналітичних дослідженнях. На «Спосіб стабілізації нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером» нами отримано патент на корисну модель №148325, що має практичне значення. Встановлено, що специфічним і потенційно небезпечним чинником в процесі виготовлення нанопорошків TiO_2 і TiO_2-Ag методом термічного розкладу метатитанової кислоти в багатосекційній обертовій печі є аерозоль ультра- і наночастинок діоксиду титану, що виявлені з застосуванням методу лазерної гранулометрії в процесі синтезу нанопорошку TiO_2 на робочому місці оператора біля пульта керування з домінуванням фракції розмірами від 19,5 нм до 38,91 нм; методом оптико-емісійної спектроскопії встановлено вміст титану в повітрі робочої зони від 0,13 до 3,3 мкг/м³.

Показано, що робота оператора синтезу згідно з критеріями Гігієнічної класифікації праці за показниками шкідливості та небезпечності факторів виробничого середовища (мікроклімат, шум, освітленість) відповідає класу 2 (допустимий), за важкістю відповідає класу 2 (допустимий, середньої важкості), за напруженістю – класу 3.1 (шкідливий, 1 ступеня, напружена праця). За вмістом наноаерозолу шкідливість праці не оцінювалась через відсутність встановленого для цих нанопорошків гігієнічного нормативу.

Вперше досліджено морфологію (розміри, форму, пористість, схильність до агрегації), кристалічну структуру, характер поверхні наночастинок і наявність на ній функціональних хімічних груп, здатних взаємодіяти з біосубстратом нанопорошків TiO_2 і TiO_2-Ag . Показано, що нанопорошок TiO_2 складається з наночастинок розміром від 20 нм до 30 нм, схильних до агрегації; нанокompозит TiO_2-Ag складається з наночастинок TiO_2 розміром від 13 нм до 20 нм і Ag – від 35 нм до 40 нм, срібло локалізується на поверхні діоксиду титану; для обох нанопорошків доведена анатазна кристалічна структура; відзначена

розвинена поверхнева структура з мезопорами і питомою поверхнею для нано- TiO_2 – 50,84 м²/г, для нано- TiO_2 -Ag – 50,11 м²/г; виявлені поверхневі дефекти на наночастинках – вакансії кисню, надлишкові електрони, дірки, гідроксильні і функціональні групи; доведено фізико-хімічну взаємодію між Ag та TiO_2 в нанокompозиті.

За результатами проведеного гострого експерименту на лабораторних тваринах, вперше встановлені середньосмертельні дози для нано- TiO_2 на рівні 4783,30 мг/кг і для нано- TiO_2 -Ag – 724,44 мг/кг та віднесено їх до відповідних класів небезпечності хімічних речовин у повітрі робочої зони. За класифікацією токсичності речовин при введенні тваринам внутрішньоочеревинно (Сидорова К.К., 1973 р.) нанопорошок TiO_2 відповідає класу VI (відносно нетоксичні), а нано- TiO_2 -Ag – класу IV (мало токсичні). За величинами перерахованих на внутрішньошлункове введення середньосмертельних доз нано- TiO_2 відповідає 4-му класу (малонебезпечні) небезпечності хімічних речовин, а нано- TiO_2 -Ag відноситься до 3-го класу (помірно небезпечні) за класифікацією небезпечності хімічних речовин у повітрі робочої зони, наведеною в документі «Гігієнічні регламенти хімічних речовин у повітрі робочої зони», затвердженому наказом МОЗ України № 1596 від 14.07.2020 року.

Доведено, що нанопорошки TiO_2 і TiO_2 -Ag не подразнюють шкіру і чинять слабо подразнюючу дію на слизову ока; можуть спричиняти слабо виражену сенсibilізаційну дію. Встановлено, що нанопорошок TiO_2 має слабо виражені кумулятивні властивості.

Встановлено, що при внутрішньоочеревинному введенні нано- TiO_2 і нано- TiO_2 -Ag шурам, титан виявлявся в цільній крові і далі розподілявся у внутрішніх органах в убуваючих кількостях: в печінці, нирках, селезінці, легенях, тимусі і наднирниках. Після одноразового внутрішньоочеревинного введення високих доз від 4000 мг/кг до 10000 мг/кг досліджуваних нанопорошків органами з найвищим накопиченням нано- TiO_2 та нано- TiO_2 -Ag виявилися нирки, печінка, селезінка і легені у мишей ($p < 0,05$).

Гістологічними методами встановлені особливості проявів патологічних змін у структурній організації тканин печінки, нирок і легень мишей після одноразового внутрішньоочеревинного введення нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ у гострому експерименті. Найбільш характерними морфологічними ознаками токсичної дії нано- TiO_2 на тканину печінки виявились дистрофічні зміни на рівні 67,7 % (цитоплазматична вакуолізація в гепатоцитах), а при впливі нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – початкові некротичні зміни на рівні 70 % (гепатоцити з пікнозом ядер). У тканині печінки виявленні кристалічні включення, які були досліджені спектрально і морфометрично, що дозволило їх ідентифікувати як наночастинки діоксиду титану. Структурні прояви токсичної дії нано- TiO_2 та нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на тканину нирок проявлялись збільшенням сечового просвіту у ниркових тільцях, дистрофічні зміни епітелію каналців різного ступеня (від набряку епітелію до некрозу і руйнації каналців). В легенях виявленні дистрофічні, некротичні зміни та геморагічне просочення тканини легень.

Досліджено вплив наночастинок діоксиду титану та діоксиду титану з сріблом в дозі 30 мкг/мл на функціональну активність мононуклеарних клітин крові донорів *in vitro* за продукцією цитокінів інтерлейкіну-1 (IL-1), інтерлейкіну-4 (IL-4), інтерлейкіну-6 (IL-6), фактора некрозу пухлини альфа (TNF- α). Встановлено, що наноматеріали TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ у концентраціях 30 мкг/мл в умовах *in vitro* здатні підвищувати функціональну активність мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією прозапальних цитокінів IL-1, IL-6, TNF- α та продукцію IL-4 у донорів ($p < 0,05$), що свідчить про можливий потенційний вплив на формування хронічного запалення та алергічних реакцій у працівників виробництва наноматеріалів. Функціональна активність мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією цитокінів (IL-1, IL-6, TNF- α , IL-4) зростає більш інтенсивно під впливом нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ ніж нано- TiO_2 , що свідчить про відносно більшу потенційну небезпеку імунотоксичності нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ для операторів синтезу.

Проведено порівняльну оцінку пошкоджуючого впливу нанодіоксиду титану і нанодіоксиду титану, модифікованого наносріблом у дозах 1/100 LD₅₀,

1/10 LD₅₀ і 1,0 LD₅₀ на статеві клітини кнурів за показники дихальної активності, активність сукцинатдегідрогенази (СДГ), активність цитохромоксидази і виживання сперміїв. Встановлено, що нанопорошки діоксиду титану (нано-TiO₂ і нано-TiO₂-Ag), починаючи з дози 1/10 LD₅₀, можуть чинити пошкоджуючу дію на статеві клітини кнурів. Вона проявляється зниженням дихальної активності сперміїв та збільшенням активності сукцинатдигідрогенази. Найбільш чутливим маркером виявився показник виживання сперміїв, значення якого достовірно знижувалось за дії наночастинок TiO₂ в дозі 1/10 LD₅₀.

Показано, що сперматозоїди кнурів можуть бути використані в методах *in vitro* на етапах токсиколого-гігієнічної оцінки нових наноматеріалів та хімічних речовин. Отримано патент на корисну модель №152744 «Спосіб оцінки токсичності наноматеріалів з використанням як тест-об'єкт сперматозоїдів кнурів *in vitro*» та видано методичні рекомендації «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*».

На основі проведених гігієнічних та експериментальних досліджень розроблені профілактичні рекомендації щодо попередження несприятливої дії нанопорошків TiO₂ і TiO₂-Ag на організм операторів синтезу, зайнятих у виробництві нанопорошків TiO₂ і TiO₂-Ag на багатосекційній обертовій печі зокрема науково обґрунтовано їх ОБРВ в повітрі робочої зони, дана кількісна оцінка ризику впливу наноаерозолу на організм операторів.

Проведені токсикологічні і гігієнічні дослідження дозволили визначити розрахункові ОБРВ досліджуваних нами нанопорошків за величинами DL₅₀ (мг/кг), молекулярною масою (г/моль), кількістю атомів металу в сполуці з врахуванням коефіцієнту запасу. Для нано-TiO₂ розрахункова ОБРВ становить 0,3 мг/м³, а для нано-TiO₂-Ag – 0,2 мг/м³. Рівень ризику шкідливого впливу нанопорошків TiO₂ і TiO₂-Ag на робочому місці оператора синтезу, розрахований нами за токсичністю наноаерозолу та експозицією наноаерозоля на робочому місці оператора синтезу, оцінений як середній.

Проведені експериментально-токсикологічні і виробничо-гігієнічні дослідження, дозволили науково обґрунтувати і запровадити низку оздоровчих заходів: медико-біологічних, організаційних, санітарно-технологічних, індивідуальних та інших заходів.

Ключові слова: механізм дії, ризик, токсикологія, гігієнічне нормування, наночастинки металів і їх сполук, імунна система, цитотоксична дія, цитокіни, гігієна і фізіологія праці, наноматеріали, гістологія, робоча зона, електронна мікроскопія, імунотоксична дія.

SUMMARY

Riabovol V.M. Comparative toxicological and hygienic assessment and prevention of the adverse effects of titanium dioxide nanopowders and titanium dioxide-silver nanocomposite in production conditions. – Qualifying scientific work in manuscript form.

The dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in Medicine, specialty 222 Medicine (field of knowledge 22 Healthcare). – O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, 2023.

The widespread use of nanomaterials is rapidly being implemented in various fields of economic activity, including biology and medicine. There is a wealth of information on the toxicity and various manifestations of the biological effects of nanomaterials, such as fullerenes, carbon nanotubes, zinc oxide, aluminum oxide, cerium oxide, gold, iron, iron oxide, silver, cobalt, lanthanum, lead, and others, in scientific literature and electronic information sources. However, during the planning stage of the dissertation research, information on the toxic properties of nanopowders based on titanium dioxide obtained by thermal decomposition of metatitanic acid, as well as for nanocomposite materials of titanium dioxide with silver, was limited or completely absent. The toxic effects of metal nanoparticles are associated with their nanoscale size and high surface activity, allowing them to penetrate cells and interact with biological structures. This can lead to the generation of reactive oxygen species, oxidative stress, DNA damage, disruption of cell membranes, impairment of organ and tissue function, inflammation and immunotoxicity, as well as the development of long-term consequences such as cancer, neurotoxicity, reproductive disorders, and other negative effects.

Promising nanomaterials are those based on titanium dioxide with high photocatalytic activity, which are used for the degradation of organic pollutants, disinfection, creation of antimicrobial and self-cleaning surfaces. The photocatalytic activity of TiO₂ nanoparticles can be significantly enhanced by modifying titanium dioxide nanoparticles with a certain amount of silver nanoparticles (nano-TiO₂-Ag). At

the I.M. Frantsevich Institute for Problems of Material Science of the National Academy of Sciences of Ukraine, nanopowders based on titanium dioxide are synthesized using an original method, namely the thermal decomposition of metatitanic acid.

The issue of ensuring the safe production and use of nanomaterials is relevant for human health and environmental preservation. During the production of TiO_2 and $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ nanopowders, there is a risk of workers inhaling air in the work area contaminated with dust particles in the ultra-microscopic and nanoscale ranges, as well as their contact with clothing, skin, and mucous membranes. The lack of comprehensive knowledge about the toxicity of nanomaterials and their potential hazards to the human body requires conducting appropriate hygienic, toxicological, medical, and biological research.

The aim of the dissertation research was to study the peculiarities of the toxic effects of titanium dioxide nanopowders and titanium dioxide-silver nanocomposite in experiments on laboratory animals, in vitro models, and to provide scientific justification for measures to prevent their potential adverse effects on the body of synthesis operators, including determining the approximate safe levels of exposure to these nanomaterials in the air of the work area.

The dissertation addresses the solution to the relevant scientific problem of occupational hygiene and preventive medicine in relation to preventing the adverse effects of titanium dioxide nanopowders and titanium dioxide-silver nanocomposite on the health of synthesis operators.

Hygienic assessment of the technological process and environmental factors in the production of new titanium dioxide nanopowders and titanium dioxide-silver nanocomposite was conducted for the first time using the thermal decomposition method of metatitanic acid in a multi-section rotary kiln at the I.M. Frantsevich Institute for Materials Science of the National Academy of Sciences of Ukraine. A special method was developed to detect ultra- and nanoscale fractions of particles in the air of the work area, which allowed for the stabilization and suspension of nanoparticles in a glucose-citrate buffer during air sampling in the work area and

subsequent analytical investigations. We obtained a patent for a useful model, No. 148325, for the «Method of Stabilizing Metal Nanopowders and their Derivatives with a Glucose-Citrate Buffer», which has practical significance. It was established that the specific and potentially hazardous factor in the synthesis process of TiO₂ and TiO₂-Ag nanopowders using the thermal decomposition method of metatitanic acid in a multi-section rotary kiln is the aerosol of ultra- and nanoscale titanium dioxide particles, detected by laser granulometry during the synthesis of TiO₂ nanopowder at the operator's workstation near the control panel, with a dominant fraction ranging from 19,5 nm to 38,91 nm. The titanium content in the air of the work area was determined using optical emission spectroscopy, ranging from 0,13 to 3,3 µg/m³.

It was demonstrated that the work of the synthesis operator, according to the criteria of Occupational Hygiene Classification based on the harmfulness and danger indicators of the production environment factors (microclimate, noise, lighting), corresponds to Class 2 (permissible). In terms of severity, it corresponds to Class 2 (permissible, medium severity), and in terms of intensity, it corresponds to Class 3.1 (harmful, level 1, intense work). The evaluation of work-related hazards due to the presence of nanoaerosols was not performed due to the absence of established hygiene standards for these nanopowders.

For the first time, the morphology (size, shape, porosity, tendency to agglomerate), crystalline structure, surface characteristics of nanoparticles, and the presence of functional chemical groups capable of interacting with the biosubstrate of TiO₂ and TiO₂-Ag nanopowders were investigated. It was shown that the TiO₂ nanopowder consists of nanoparticles ranging from 20 nm to 30 nm, with a tendency to aggregate. The TiO₂-Ag nanocomposite consists of TiO₂ nanoparticles ranging from 13 nm to 20 nm and Ag nanoparticles ranging from 35 nm to 40 nm, with silver localized on the surface of titanium dioxide. Both nanopowders exhibited anatase crystal structure, developed surface structure with mesopores, and specific surface areas of 50.84 m²/g for nano-TiO₂ and 50.11 m²/g for nano-TiO₂-Ag. Surface defects such as oxygen vacancies, excess electrons, holes, hydroxyl, and functional groups

were observed on the nanoparticles. The physicochemical interaction between Ag and TiO₂ in the nanocomposite was confirmed.

According to the results of an acute experiment conducted on laboratory animals, the average lethal doses for nano-TiO₂ were determined to be 4783,30 mg/kg and for nano-TiO₂-Ag, it was 724,44 mg/kg. These values classify them into the respective hazard classes of chemical substances in the occupational air zone. Based on the classification of substance toxicity when administered intraperitoneally to animals (Sidorova K.K., 1973), nano-TiO₂ powder corresponds to Class VI (relatively non-toxic), while nano-TiO₂-Ag belongs to Class IV (slightly toxic). In terms of the calculated median lethal doses administered via intragastric route, nano-TiO₂ corresponds to Hazard Class 4 (slightly hazardous) for chemical substances, while nano-TiO₂-Ag falls into Hazard Class 3 (moderately hazardous) based on the classification of chemical substance hazards in the occupational air zone, as presented in the document «Hygienic Regulations for Chemical Substances in the Occupational Air Zone», approved by the Ministry of Health of Ukraine, Order No. 1596 dated July 14, 2020.

It has been demonstrated that TiO₂ and TiO₂-Ag nanoparticles do not irritate the skin but exert weak irritant effects on the mucous membranes of the eyes. They may cause weak sensitization reactions. It has been established that TiO₂ nanoparticles have weak cumulative properties.

Furthermore, it has been found that upon intraperitoneal administration of nano-TiO₂ and nano-TiO₂-Ag to rats, titanium was detected in the whole blood and distributed in decreasing amounts in internal organs such as the liver, kidneys, spleen, lungs, thymus, and adrenal glands. After a single intraperitoneal administration of high doses ranging from 4000 mg/kg to 10000 mg/kg of the investigated nanopowders, the organs with the highest accumulation of nano-TiO₂ and nano-TiO₂-Ag in mice were the kidneys, liver, spleen, and lungs ($p < 0,05$).

Histological methods revealed the features of pathological changes in the structural organization of liver, kidney, and lung tissues in mice following a single intraperitoneal administration of TiO₂ and TiO₂-Ag nanopowders in the acute

experiment. The most characteristic morphological signs of the toxic effect of nano-TiO₂ on liver tissue were observed at a level of 67,7% (cytoplasmic vacuolization in hepatocytes), while in the case of nano-TiO₂-Ag, initial necrotic changes were observed at a level of 70% (hepatocytes with pyknotic nuclei). Crystalline inclusions were found in liver tissue, which were examined spectrally and morphometrically, allowing them to be identified as titanium dioxide nanoparticles. Structural manifestations of the toxic effects of nano-TiO₂ and nano-TiO₂-Ag on kidney tissue included an enlargement of the urinary space in renal corpuscles, dystrophic changes in tubular epithelium of varying degrees (ranging from epithelial swelling to necrosis and destruction of tubules). In the lungs, dystrophic and necrotic changes as well as hemorrhagic infiltration of lung tissue were observed.

The impact of titanium dioxide nanoparticles and silver-modified titanium dioxide nanoparticles at a dose of 30 µg/mL on the functional activity of mononuclear cells from donor blood was investigated *in vitro*, based on the production of cytokines interleukin-1 (IL-1), interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor-alpha (TNF-α). It was determined that nano-TiO₂ and nano-TiO₂-Ag at concentrations of 30 µg/mL *in vitro* are capable of increasing the functional activity of peripheral blood mononuclear cells in terms of pro-inflammatory cytokine production (IL-1, IL-6, TNF-α), as well as IL-4 production in donors ($p < 0,05$). This indicates a potential influence on the development of chronic inflammation and allergic reactions in workers involved in nanomaterial production. The functional activity of peripheral blood mononuclear cells in terms of cytokine production (IL-1, IL-6, TNF-α, IL-4) increases more intensively under the influence of nano-TiO₂-Ag than nano-TiO₂, suggesting a relatively higher potential risk of immunotoxicity from nano-TiO₂-Ag for synthesis operators.

A comparative assessment of the damaging effects of titanium dioxide nanoparticles and silver-modified titanium dioxide nanoparticles at doses of 1/100 LD₅₀, 1/10 LD₅₀, and 1.0 LD₅₀ on testicular cells in male rats was conducted based on respiratory activity, succinate dehydrogenase (SDH) activity, cytochrome oxidase activity, and sperm survival indicators. It was found that titanium dioxide nanopowders

(nano-TiO₂ and nano-TiO₂-Ag), starting from a dose of 1/10 LD₅₀, can exert damaging effects on testicular cells in male rats, manifested by a decrease in sperm respiratory activity and an increase in SDH activity. The sperm survival indicator was the most sensitive marker, with its value significantly reduced under the influence of nano-TiO₂ at a dose of 1/10 LD₅₀.

The results demonstrate that rat spermatozoa can be used as a test object in *in vitro* methods for toxicological and hygiene evaluation of new nanomaterials and chemicals. A utility model patent No. 152744 titled «Method for evaluating the toxicity of nanomaterials using rat spermatozoa as a test object *in vitro*» was obtained, and methodological recommendations titled «New method for evaluating the toxicity of metal nanoparticles on rat testicular cells in *in vitro* studies» were published.

Based on the conducted hygiene and experimental research, preventive recommendations were developed to prevent the adverse effects of TiO₂ and TiO₂-Ag nanopowders on the bodies of synthesis operators working in the production of TiO₂ and TiO₂-Ag nanopowders using a multi-section rotary kiln. The recommended maximum permissible concentration (MPC) values for airborne nanopowders were scientifically substantiated and calculated based on LD₅₀ values (mg/kg), molecular mass (g/mol), and the number of metal atoms in the compound, taking into account the safety factor. The calculated MPC for nano-TiO₂ is 0,3 mg/m³, and for nano-TiO₂-Ag, it is 0,2 mg/m³. The level of risk from the harmful effects of TiO₂ and TiO₂-Ag nanopowders on the synthesis operator's workplace, assessed as average, was determined based on the toxicity of the nanoaerosol and the exposure to nanoaerosol at the synthesis operator's workplace.

The conducted toxicological and hygiene studies allowed for the determination of calculated MPC values for the investigated nanopowders, considering DL50 (mg/kg), molecular mass (g/mol), and the number of metal atoms in the compound, taking into account the safety factor. For nano-TiO₂, the calculated MPC is 0,3 mg/m³, and for nano-TiO₂-Ag, it is 0,2 mg/m³. The level of risk from the harmful effects of TiO₂ and TiO₂-Ag nanopowders on the synthesis operator's workplace, calculated

based on the toxicity of the nanoaerosol and the exposure to nanoaerosol at the synthesis operator's workplace, was assessed as average.

The conducted experimental toxicological and production hygiene studies allowed for the scientific justification and implementation of a range of health measures, including medical-biological, organizational, sanitary-technological, individual, and other measures.

Key words: mechanism of action, risk, toxicology, hygienic regulation, nanoparticles of metals and their compounds, immune system, cytotoxic effect, cytokines, hygiene and physiology of work, nanomaterials, histology, working area, electron microscopy, immunotoxic effect.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Загорний М.М., Яворовський О.П., Рябовол В.М., Тищенко Н.І., Лобунець Т.Ф., Томила Т.В., Широков О.В., Рагуля А.В., Анісімов Є.М. Морфологічні, спектральні і токсикологічні особливості нового композитного матеріалу нанодіоксиду титану з наносріблом для використання в медицині та біології. *Медичні перспективи*. 2022. Т. 27, № 1. С. 152-159. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.1.254381>
2. Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М., Демецька О.В. Порівняльна оцінка пошкоджуючої дії наночастинок на основі діоксиду титану на статеві клітини кнурів в експерименті *in vitro*. *Медичні перспективи*. 2022. Т. 27, № 4. С. 13-19. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.4.271117>
3. Яворовський О.П., Андрусишина І.М., Рябовол В.М. Особливості розподілу титану та срібла у внутрішніх органах лабораторних щурів та мишей, експонованих високими дозами наночастинок діоксиду титану та його композиту з наносріблом. *Медичні перспективи*. 2023. Т. 28, № 1. С. 173-178. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.1.276213>
4. Рябовол В.М. Особливості будови, фізико-хімічних і токсикологічних властивостей наночастинок діоксиду титану, одержаного за технологією термічного розкладу (літературний огляд і власні дослідження). *Довкілля та здоров'я*. 2020. № 4 (97), С. 63-70. DOI: <https://doi.org/10.32402/dovkil2020.04.063>
5. Рябовол В.М., Курченко А.І., Яворовський О.П., Савченко В.С., Таран Н.В. Дослідження функціональної активності мононуклеарних клітин крові за продукцією цитокінів під впливом фотоактивних титановмісних наноматеріалів *in vitro*. *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2021. № 3. С. 23-30. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2021.3-03>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Рябовол В.М., Таран Н.В., Різник К.С. Особливості токсичності та будови нанопорошку діоксиду титану синтезованого методом термічного розкладу. *Advancing in research and Education: Abstracts of XII International Scientific and Practical Conference* (La Rochelle, France, December 07 – 10, 2020). 2020. С. 267-268. DOI: <https://doi.org/10.46299/ISG.2020.II.XII>

7. Рябовол В.М. Особливості токсичної дії новосинтезованих нанопорошків діоксиду титану та його нанокompозиту з сріблом. *Annual young medical scientist's conference 2020: матеріали міжнародної конференції молодих науковців* (м. Київ, 27-28 листопада, 2020). Український науково-медичний молодіжний журнал (Спеціальний випуск). Т. 120, № 4. 2020. С. 40. DOI: <https://doi.org/10.32345/USMYJ.120.2020>

8. Рябовол В.М. Дослідження місцево-подразнюючої та сенсibilізууючої дії нанодіоксиду титану та нанокompозиту діоксиду титану з сріблом в експерименті на лабораторних тваринах. *Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю* (м. Київ, 17 березня 2021 р.). Київ, 2020. С. 155-156.

9. Рагуля А.В., Загорний М.М., Рябовол В.М., Тищенко Н.І. Характеристика будови та токсикологічних властивостей нанопорошків діоксиду титану та його композиту з наносріблом. *Нанотехнології і наноматеріали у фармації та медицині: матеріали V Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю* (м. Харків, 23 квітня 2021 р.). Харків, 2021. С. 70.

10. Демецька О.В., Мовчан В.О., Рябовол В.М. Стабілізація нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером. *Нанотехнології і наноматеріали у фармації та медицині: матеріали V*

всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (м. Харків, 23 квітня 2021 р.). Харків, 2021. С. 28.

11. Козар Т.І., Рябовол В.М. Дослідження внутрішньоочеревинної та перкутанної токсичності нанопорошків діоксиду титану та нанокompозиту діоксиду титану з сріблом на лабораторних тваринах. *42 Наукові читання імені О.О. Богомольця*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О.О. Богомольця (24 травня 2021 р.). Київ, 2021. С. 110. DOI: <https://doi.org/10.32345/conf.2021/NMU/Kyiv>

12. Zahornyi M., Lavrynenko O., Tyschenko N., Ragulya A., Riabovol V., Zinchenko T. Structural features and toxicological properties of TiO₂/Ag and La₂O₃/Ag nanocomposites. *International Young Scientists Conference on Materials Science and Surface Engineering: Proceedings MSSE2021* (Lviv, September 22-24, 2021). Lviv, 2021. P. 82-84.

13. Рябовол В.М., Козар Т.І. Дослідження гострої токсичної дії нанопорошків діоксиду титану та його композитів з наносріблом на лабораторних мишах. *Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Київ, 16 березня 2022 р.). Київ, 2022. С. 160-162.

14. Zahornyi M., Riabovol V., Tyschenko N., Ragulya A., Zinchenko T. Acute toxicity of titanium dioxide nanopowder and its composites with nanosilver to laboratory mice. *Nanoobjects & Nanostructuring (N&N-2022)*: Proceedings of the 2nd International Research and Practice Conference (Lviv, September 26–28, 2022). Lviv, 2022. P. 43-44.

15. Козар Т.І., Рябовол В.М. Дослідження токсичності нанопорошків діоксиду титану та нанокompозиту діоксиду титану з сріблом та визначення вмісту металів у внутрішніх органах мишей. *Актуальні питання гігієни праці та професійної патології*: матеріали 57-ї науково-практичної конференції молодих вчених (м. Київ, 24 листопада 2022 р.). Київ, 2022. С. 12-13.

16. Рябовол В.М. Порівняльне токсикологічне дослідження нанокompatитів діоксиду титану, модифікованими різним вмістом наносрібла у гострому експерименті на лабораторних тваринах. *Актуальні питання гігієни праці та професійної патології*: матеріали 57-ї науково-практичної конференції молодих вчених (м. Київ, 24 листопада 2022 р.). Київ, 2022. С. 40-41.

17. Козар Т.І., Рябовол В.М., Бундзяк О.П. Дослідження вмісту мікроелементів у серці та легенях мишей після введення нанопорошку діоксиду титану та нанокompatиту діоксиду титану з сріблом. *Актуальні питання сучасної медицини*: тези доповідей XIX Міжнародної наукової конференції студентів, молодих вчених та фахівців (м. Харків, 15-16 грудня 2022 р.). Харків, 2022. С. 177-179.

18. Козар Т.І., Рябовол В.М. Мікроелементи та морфологія печінки мишей за умов гострого впливу наночастинок діоксиду титану та його нанокompatиту зі сріблом. *Квітнева наукова сесія 2023*: матеріали наукової конференції (м. Київ, 17 квітня 2023 р.). Український науково-медичний молодіжний журнал (Спеціальний випуск). Т. 138, № 2. 2023. С. 57. DOI: <https://doi.org/10.32345/USMYJ.SUPPLEMENT.2.2023.5-62>

19. Козар Т.І., Рябовол В.М. Аналіз досліджень антиканцерогенних властивостей комбінації ультрафіолетового випромінювання та наночастинок діоксиду титану на злоякісних культурах клітин. *XI Міжнародний семінар студентів та молодих вчених, присвячений всесвітньому дню боротьби з раком*: (м. Київ, 3 лютого 2023 р.). Український науково-медичний молодіжний журнал (Спеціальний випуск), Т. 137, № 1. 2023. С. 8-9.

20. Рябовол В.М., Козар Т.І. Гігієнічна оцінка важкості праці оператора при виробництві нанопорошку діоксиду титану методом термічного синтезу на багатосекційній обертовій печі. *Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Київ, 15 березня 2023 р.). Київ, 2023. С. 169-170.

21. Рябовол В.М., Козар Т.І., Брухно Р.П. Гігієнічне дослідження параметрів мікроклімату та виробничого шуму на виробництві нанопорошку

діоксиду титану методом термічного синтезу. *Здоров'я для всіх (Health for all): матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю до всесвітнього дня здоров'я 2023 р. та 75-річчя ВООЗ (м. Київ, 6 квітня 2023 р.). Клінічна та профілактична медицина. № 2(24). 2023. С. 107.*

22. Яворовський О.П., В.М. Рябовол, Т.С. Зазуляк. Порівняльна токсиколого-гігієнічна оцінка нових нанопорошків TiO_2 та TiO_2-Ag . *Актуальні проблеми профілактичної медицини та медичної екології: збірник наукових праць до науково-практичної конференції присвяченій пам'яті професора Шафрана Л.М. (м. Львів, 17-18 травня 2023 року). Львів, 2023. С. 102-112.*

23. Рябовол В.М., Савосько С.І. Морфологічні зміни тканин внутрішніх органів при гострому впливі нано- TiO_2 і нано- TiO_2-Ag на лабораторних мишей. *Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д.мед.н., професора Ю. Б. Чайковського (м. Київ, 8-9 червня 2023 р.). Український науково-медичний молодіжний журнал (Спеціальний випуск). Т. 138, № 2. 2023. С. 138-139.*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

24. Демецька О.В., Мовчан В.О., Яворовський О.П., Рябовол В.М., Белюга О.Г. Спосіб стабілізації нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером: пат. 148325 Україна G01N33/18, G01N33/48, B82Y5/00. № u202007215; заяв. 12.11.2020; опубл. 28.07.2021, бюл. № 30/2021. 2 с.

25. Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М., Демецька О.В. Спосіб оцінки токсичності наноматеріалів з використанням як тест-об'єкт сперматозоїдів кнурів *in vitro*: пат. 152744 Україна G01N 33/48, G01N 33/483, G01N 33/50, № u202203484; заяв. 21.09.2022; опубл. 05.04.2023, бюл. №14/2023. 3 с.

26. Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М. Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в

дослідженнях *in vitro*. Методичні рекомендації, затв. начальником лікувально-організаційного управління НАМН України, д.мед.н., проф. І. Шкробанець. Київ, 2023. 4 с.

ВСТУП

Актуальність теми. У сучасному світі стрімко розвиваються нанотехнології та широко застосовуються нові наноматеріали, що обумовлює, зростання обсягів їх виробництва та появу нових матеріалів з унікальними властивостями. Наноматеріали все ширше використовують у різних галузях економічної діяльності, включаючи біологію і медицину. Актуальною для здоров'я людини та довкілля є проблема забезпечення безпечного виробництва і використання наноматеріалів.

Одне з провідних місць серед наноматеріалів посідають наночастинки металів та їх неорганічних сполук. Нанорозмірні частинки металів характеризуються механічними, фізичними та хімічними властивостями, які відрізняються від притаманних металам і їх сполукам зі звичайними об'ємними розмірами.

Перспективними є наноматеріали на основі діоксиду титану, з високою фотокаталітичною активністю, які застосовуються для знешкодження органічних забруднювачів, знезаражування, створення антимікробних та самоочисних поверхонь. Фотокаталітичну активність наночастинок TiO_2 значно підвищує додавання до нанодіоксиду титану певної кількості срібла (нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$) [1-3]. Виражена фотокаталітична активність зумовлює високу біологічну дію наночастинок TiO_2 – віруцидну, бактерицидну, фунгіцидну [4-11].

В Інституті проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича НАН України нанопорошки на основі діоксиду титану синтезують власним оригінальним методом – термічного розкладу метатитанової кислоти.

Основними шляхами надходження наночастинок металів на робочому місці до організму оператора синтезу є: інгаляційний, перкутанний, пероральний. При виготовленні нанопорошків під час виконання ручних операцій є ризик вдихання працівником повітря робочої зони забрудненого пиловими частинками як ультрамікроскопічного, так і нанодіапазону, а також потрапляння їх на його одяг, шкіру та слизові оболонки.

В науковій літературі та електронних інформаційних джерелах є багато відомостей щодо токсичності і різних проявів біологічної дії наноматеріалів – фулеренів, карбонових нанотрубок, оксиду цинку, оксиду алюмінію, оксиду церію, золота, заліза, оксиду заліза, срібла, кобальту, лантану, свинцю та інших. Токсичний вплив наночастинок металів пов'язують з їх нанорозмірністю та великою поверхневою активністю, що дозволяє їм проникати в клітини та взаємодіяти з біологічними структурами. Це може призводити до створення реактивних кисневих форм, спричинення окислювального стресу, пошкодження ДНК, руйнування клітинних мембран, порушення функції органів та тканин, запалення та імунотоксичності, а також до розвитку довготривалих наслідків, таких як рак, нейротоксичність, репродуктивні порушення та інших негативних ефектів [12-16].

Разом з тим, відомості про токсикологічні властивості нанопорошків діоксиду титану та його композиту, модифікованого наносріблом, синтезованого методом термічного розкладу метатитанової кислоти на багатосекційній обертовій печі, в доступних нам джерелах наукової літератури відсутні. Це обумовлює необхідність більш детального вивчення будови цих матеріалів: розмірів, форми, здатності до агломерації, площі питомої поверхні, кристалічної структури, характеристики поверхні наночастинок, наявності поверхневих хімічних функціональних груп. Також, не вивчено гострий токсичний вплив нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на лабораторних тварин та не встановлені середньосмертельні дози, не вивчена місцево подразнююча дія на шкіру та слизову оболонку ока, не досліджені кумулятивні властивості, не вивчений їх розподіл в організмі, не виявлені органи з найбільшим їх накопиченням, не досліджені морфологічні зміни у внутрішніх органах, не вивчений вплив на імунну систему, не показана гонадотоксична дія. Також, не було науково обґрунтовано заходи профілактики несприятливої дії нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на організм операторів синтезу та кількісно не оцінені ризики можливого впливу на операторів синтезу в реальному виробництві.

Відсутність ґрунтовних відомостей щодо ступеня токсичності наноматеріалів та їх потенційної небезпеки для організму людини вимагає проведення відповідних гігієнічних, токсикологічних, медичних і біологічних досліджень. Дисертаційна робота націлена на вирішення актуальної проблеми – забезпечення безпеки у виробництві цих матеріалів.

Таким чином, нереалізовані перераховані напрямки досліджень обумовили необхідність виконання даної роботи та визначили її мету і завдання.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Токсиколого-гігієнічні дослідження наночастинок металів та оцінка ризику їх несприятливого впливу для здоров'я працюючих», державний реєстраційний номер 0119U100182 (2022-2024 рр.).

Мета дослідження полягає у вивченні особливостей токсичного впливу нанопорошків діоксиду титану та композиту нанодіоксиду титану з наносріблом в експерименті на лабораторних тваринах, моделях *in vitro* та наукове обґрунтування заходів профілактики їх можливої несприятливої дії на організм операторів синтезу.

Для реалізації поставленої мети необхідно було вирішити наступні **завдання дослідження:**

1. Провести гігієнічну оцінку технологічного процесу і факторів виробничого середовища при отриманні нових нанопорошків діоксиду титану та композиту нанодіоксиду титану з наносріблом методом термічного розкладу метатитанової кислоти на багатосекційній обертовій печі в «Інституті проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича НАН України».

2. Вивчити морфологічні і спектральні характеристики нанодіоксиду титану та нового композитного наноматеріалу діоксиду титану з наносріблом, синтезованого в «Інституті проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича НАН України», зокрема дослідити розміри, форму, пористість, площу питомої поверхні, кристалічну структуру, виявити хімічні функціональні групи на поверхні, здатність до агломерації тощо.

3. Дослідити у порівняльному аспекті токсичну і подразнюючу дії нанодіоксиду титану і композиту нанодіоксиду титану з наносріблом при одноразовому внутрішньоочеревинному введенні мишам і нанесені на шкіру морських свинок та слизову оболонку ока кроля; вивчити кумулятивні властивості нанодіоксиду титану при багаторазовому внутрішньошлунковому введенні щурам.

4. Дослідити розподіл титану і срібла у внутрішніх органах лабораторних щурів та мишей в умовах введення високих доз наночастинок TiO_2 і TiO_2-Ag та вивчити накопичення металів в крові, печінці, нирках, селезінці, тимусу, наднирників, серці, мозку.

5. Вивчити морфологічні зміни в тканинах печінки, нирок, селезінки, легень, серця і головного мозку мишей в умовах введення нанопорошку у високих дозах. Дослідити накопичення наночастинок діоксиду титану в тканині печінки методами скануючої електронної мікроскопії і енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії.

6. Дослідити вплив наночастинок діоксиду титану та діоксиду титану з сріблом в дозі 30 мкг/мл на функціональну активність мононуклеарних клітин крові донорів *in vitro* за продукцією цитокінів інтерлейкіну-1, інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-6, фактора некрозу пухлини альфа.

7. Провести порівняльну оцінку пошкоджуючого впливу нанодіоксиду титану і нанодіоксиду титану, модифікованого наносріблом у дозах $1/100 LD_{50}$, $1/10 LD_{50}$ і $1,0 LD_{50}$ на статеві клітини кнурів за показники дихальної активності, активність сукцинатдегідрогенази, активність цитохромоксидази і виживання сперміїв.

8. Науково обґрунтувати орієнтовні безпечні рівні впливу нанодіоксиду титану і нанодіоксиду титану модифікованого наносріблом в повітрі робочої зони. Розрахувати за показниками токсичності та експозиції нано- TiO_2 і нано- TiO_2-Ag на робочому місці оператора рівень ризику шкідливого впливу досліджуваних нанопорошків.

9. На основі власних експериментальних досліджень та даних наукових і нормативно-методичних джерел запропонувати комплекс профілактичних заходів для операторів синтезу нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$.

Об'єкт дослідження: нанопорошки діоксиду титану (нано- TiO_2) та композиту діоксиду титану з сріблом (нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$), технологічний процес виробництва наноматеріалів на багатосекційній обертовій печі, експериментальні тварини, мононуклеарні клітини крові донорів, статеві клітини кнурів під впливом нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$.

Предмет дослідження: особливості будови, поверхнева структура і спектральні характеристики нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$, умови праці операторів синтезу, параметри гострої токсичності, кумулятивні властивості, місцево подразнююча дія на шкіру і слизову оболонку ока, морфофункціональні зміни і накопичення наночастинок у внутрішніх органах теплокровних тварин, функціональна активність мононуклеарних клітин крові, пошкоджуюча дія на статеві клітини кнурів під впливом нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$.

Методи дослідження: гігієнічні, психофізіологічні, токсикологічні, просвітлююча і скануюча електронна мікроскопія, фізичні, гістологічні, імунологічні, біохімічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів: Вперше проведено гігієнічну оцінку умов праці оператора синтезу нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$, виявлено наночастинок діоксиду титану у повітрі робочої зони.

Вперше досліджено морфологію (розміри, форму, пористість, схильність до агломерації), кристалічну структуру, характер поверхні наночастинок і наявність на ній функціональних хімічних груп, здатних взаємодіяти з біосубстратом нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$.

За результатами гострого експерименту вперше встановлені середньосмертельні дози для нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ та віднесено їх до відповідних класів небезпечності хімічних речовин у повітрі робочої зони. Встановлено відсутність місцево-подразнюючої дії нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на шкіру та слабо виражену – на слизову оболонку ока. Доведено низькі

кумулятивні властивості нанопорошку TiO_2 . Встановлено слабо виражену сенсibiliзуючу дію нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$.

Виявлено структурні зміни печінки, нирок, легень при впливі нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$. У тканині печінки виявленні кристалічні включення, які були досліджені спектрально і морфометрично, що дозволило їх ідентифікувати як наночастинки діоксиду титану. Вивчено вплив досліджуваних нанопорошків на імунну систему в експериментах за функціональною активністю мононуклеарних клітин донорів в умовах *in vitro*. Вивчено пошкоджуючий вплив нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на статеві клітини кнурів.

На основі проведених гігієнічних та експериментальних досліджень розроблені профілактичні рекомендації щодо попередження несприятливої дії нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на організм операторів синтезу, зокрема запропоновано їх ОБРВ в повітрі робочої зони, дана кількісна оцінка ризику впливу наноаерозолі на організм операторів.

Практичне значення одержаних результатів. Науково обґрунтовані профілактичні заходи з оздоровлення умов праці операторів синтезу, зайнятих у виробництві нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на багатосекційній обертовій печі. Для виявлення фракцій ультра- і наночастинок, розроблено спеціальний метод, який дозволяв стабілізувати і утримувати наночастинки в завислому стані у глюкозо-цитратному буфері при відборі проб повітря у робочій зоні та при подальших аналітичних дослідженнях. На «Спосіб стабілізації нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером» нами отримано патент на корисну модель № 148325. Показано, що сперматозоїди кнурів можуть бути використані в методах *in vitro* на етапах токсиколого-гігієнічної оцінки нових наноматеріалів та хімічних речовин. Отримано патент на корисну модель № 152744 «Спосіб оцінки токсичності наноматеріалів з використанням як тест-об'єкт сперматозоїдів кнурів *in vitro*» та видано методичні рекомендації «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*».

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проведено патентно-інформаційний пошук, здійснено аналітичний огляд літератури, сформульовано мету і завдання дослідження. Самостійно дисертантом здійснено вивчення умов праці операторів синтезу нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на багатосекційній обертовій печі, виявлено провідні гігієнічні фактори на різних етапах технологічного процесу. Самостійно проведено токсикологічні експерименти на лабораторних тваринах, зокрема вивчено гостру токсичність, кумулятивні властивості, подразнюючу дію на шкіру та слизову оболонку ока. Брав участь в постановці експериментів з дослідження розподілу металів у внутрішніх органах, впливу на імунну систему, пошкоджуючої дії на статеві клітини кнурів нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$

Дисертантом особисто виконано статистичну обробку, аналіз та узагальнення результатів дослідження, формулювання висновків роботи.

Головна ідея та напрям досліджень визначені спільно з науковими керівниками академіком НАМН України, д.мед.н., проф. О.П. Яворовським., д.мед.н., проф. А.І. Курченком. Вивчення дисперсного складу наночастинок, дослідження їх масової концентрації проведено за консультацій к.б.н. Демецької О.В., д.б.н. Андрусишиної І.М. ДУ «Інститут медицини праці НАМН України ім. Ю. І. Кундієва». Поверхневу структуру та спектральні характеристики нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ досліджено за консультації к.х.н. Загорного М.М., к.ф.м.н. Томили Т.В., н.с. Лобунець Т.Ф. «Інституту проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича». Технологічні особливості синтезу наноматеріалів TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ вивчено за консультацій академіка НАН України, д.т.н., проф. Рагулі А.В., м.н.с. Тищенко Н.І. «Інституту проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича». Імунологічні дослідження проводилося на кафедрі клінічної імунології та алергології НМУ за консультацією проф. Курченка А.І. Дослідження вмісту Ti (і Ag) у внутрішніх органах лабораторних тварин, експонованих нано- TiO_2 або нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ проведено за консультацій д.б.н. Андрусишиної І.М. ДУ «Інститут медицини праці НАМН України ім. Ю. І. Кундієва». Морфологічні дослідження виконано

на кафедрі гістології НМУ за консультативної допомоги доц. Савоська С.І. Дослідження нанопорошків і біологічних зразків скануючою електронною мікроскопією з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією виконано за консультативної допомоги с.н.с. Скорика М.А. Вплив на статеві клітини кнурів досліджено за консультації д.б.н. Остапова Д.Д. «Інституту біології тварин НААН України».

Апробація результатів дослідження. Результати дисертаційної роботи викладено і обговорено на: міжнародній науково-практичній конференції XII International Scientific and Practical Conference «Advancing in research and Education» (La Rochelle, France, December 07 – 10, 2020) форма участі – публікація тез; міжнародній конференції молодих науковців 2020 «Annual young medical scientist's conference 2020» (м. Київ, 27-28 листопада, 2020) форма участі – усна доповідь і публікація тез; науково-практичній конференції з міжнародною участю «Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини» (м. Київ, 17 березня 2021 р.) форма участі – усна доповідь і публікація тез; V Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Нанотехнології і наноматеріали у фармації та медицині» (м. Харків, 23 квітня 2021 р.) форма участі – публікація тез; науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О.О. Богомольця «42 Наукові читання імені О.О. Богомольця» (м. Київ, 24 травня 2021 р.) форма участі – публікація тез; міжнародній науково-практичній конференції «International Young Scientists Conference on Materials Science and Surface Engineering (MSSE2021)» (Lviv, September 22-24, 2021) форма участі – усна доповідь і публікація тез; науково-практичній конференції з міжнародною участю «Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини» (м. Київ, 16 березня 2022 р.) форма участі – усна доповідь і публікація тез; міжнародній науково-практичній конференції 2nd International Research and Practice Conference «Nanoobjects & Nanostructuring (N&N-2022)» (Lviv, September 26–28, 2022) форма участі – постерна доповідь і публікація тез; 57-й науково-практичній конференції молодих вчених «Актуальні питання гігієни

праці та професійної патології» (м. Київ, 24 листопада 2022 р.) форма участі – усна доповідь і публікація тез; XIX Міжнародній науковій конференції студентів, молодих вчених та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини» (м. Харків, 15-16 грудня 2022 р.) форма участі – публікація тез; наукової конференції «Квітнева наукова сесія 2023» (м. Київ, 17 квітня 2023 р.) форма участі – публікація тез; XI Міжнародному семінарі студентів та молодих вчених, присвячений всесвітньому дню боротьби з раком (м. Київ, 3 лютого 2023 р.) форма участі – публікація тез; науково-практичній конференції з міжнародною участю «Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини» (м. Київ, 15 березня 2023 р.) форма участі – усна доповідь і публікація тез; науково-практичній конференції з міжнародною участю до всесвітнього дня здоров'я 2023 р. та 75-річчя ВООЗ «Здоров'я для всіх (Health for all)» (м. Київ, 6 квітня 2023 р.) форма участі – публікація тез; науково-практичній конференції присвяченій пам'яті професора Шафрана Л.М. «Актуальні проблеми профілактичної медицини та медичної екології» (м. Львів, 17-18 травня 2023 року) форма участі – усна доповідь і публікація статті; Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д.мед.н., професора Ю. Б. Чайковського «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці» (м. Київ, 8-9 червня 2023 р.) форма участі – публікація тез.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 227 сторінках друкованого тексту, складається з анотації, вступу, 7 розділів (аналітичного огляду літератури; програми, обсягів і методів дослідження; 4 розділів власних досліджень; аналізу та узагальненню одержаних результатів) висновків, профілактичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Робота містить 15 таблиць і 38 рисунків. Список використаних джерел складається з 157 найменувань.

Публікації. За результатами роботи опубліковано 26 наукових праць, в яких відображено основні її положення: серед них; 3 – в міжнародних виданнях,

які входять до наукометричної бази Scopus; 2 – в наукових фахових виданнях; 18 тез; видано 1 методичні рекомендації та одержано 2 патенти на корисну модель.

РОЗДІЛ 1

ГІГІЄНИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СУЧАСНИХ ТЕХНОЛОГІЙ СИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ ТА ЇХ СПОЛУК, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ І ТОКСИКОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАНОМАТЕРІАЛІВ (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Технології одержання, морфологічні і фізико-хімічні характеристики наночастинок металів та їх неорганічних сполук

Широке застосування нанотехнологій та наноматеріалів з унікальними властивостями це реальність сьогодення. Багато найменувань продуктів з використанням наноматеріалів впевнено увійшли в усі сфери економічної діяльності країн світу, в тому числі України.

Наночастинки – це частинки матерії, розміри яких за одним із вимірів становлять від 1 до 100 нанометрів (один нанометр дорівнює одній мільярдній частинці 10^{-9} метра). Префікс «нано» походить від грецького слова «nanos», що перекладається як дуже малий, карликовий [13, 17].

У 2011 році Європейська комісія визначила наноматеріали як будь-який природний, випадковий або виготовлений матеріал, що містить частинки у незв'язаному стані, або у вигляді агрегату, або у вигляді агломерату, і де для 50% або більше частинок у числовому розподілі розмірів один або більше зовнішніх розмірів знаходяться в діапазоні розмірів 1-100 нм. У особливих випадках і якщо це виправдано проблемами збереження навколишнього середовища, здоров'я, безпеки чи конкурентоспроможності, порогове значення розподілу розміру в 50% може бути замінено пороговим значенням від 1% до 50%. Як відступ від вищезазначеного, фулерени, пластівці графену та одностінні вуглецеві нанотрубки з одним або більше зовнішніми розмірами менше 1 нм слід також розглядати як наноматеріали [17].

Наноматеріали відрізняються своєю морфологією, формами, розмірами, складом, пористістю, однорідністю та фазністю будови частинок, тому для їх

класифікації було використано кілька підходів [17]. На сьогодні отримано та описано багато типів наноматеріалів, а надалі буде розроблено ще багато інших.

Згідно з рекомендаціями 7-ої Міжнародної конференції з нанотехнологій (Вісбаден, 2004 р.) виділяють 6 типів наноматеріалів: нанопористі структури, наночастинки, нанотрубки і нановолокна, нанодисперсії (колоїди), наноструктуровані поверхні і плівки, нанокристали і нанокластери [13].

За походженням наноматеріали можна поділити на чотири основні типи: природні, випадкові (наприклад, при згоранні), біологічні та сконструйовані наноматеріали [17].

За хімічною природою (ідентичністю) виділяють 6 класів наноматеріалів: кераміка, метали, напівпровідники (частково металеві), полімери (природні), синтетичні (вуглецеві), органічні (неорганічні) [18].

Одне з провідних місць серед наноматеріалів посідають наночастинки металів та їх неорганічних сполук. Нанорозмірні частинки металів характеризуються механічними, фізичними та хімічними властивостями, які відрізняються від притаманних металам і їх сполукам зі звичайними об'ємними розмірами. Перехід від макророзмірів до наночастинок супроводжується зміною міжатомних відстаней та періодів кристалічної решітки, саме це зумовлює особливість властивостей наноструктур [15-16].

Технології одержання наночастинок металів умовно поділяють на три групи. До першої групи віднесені технології, за яких наночастинки утворюються у результаті об'єднання атомів і молекул (хімічні, висхідні «знизу – догори», або «bottom up»); до другої групи належать технології, за яких наночастинки металів одержують у результаті диспергування матеріалів (фізичні, низхідні «зверху – до низу», або «top-down») і третя група об'єднує ці два принципи [13, 15-17].

Для одержання наночастинок діоксиду титану TiO_2 розроблено декілька технологій, проте на практиці найчастіше використовують три з них. Це технології золь-гель, гідротермальна та методу осадження [18, 19].

Процес золь-гель методу полягає у переведенні золю у гель. Це відбувається у результаті гідролізу і реакції полімеризації прекурсорів TiO_2

(колоїдної суспензії) через точку гелеутворення. Золь при цьому втрачає рухомість і перетворюється на гель (нерухому структуру). Золь-гель метод не вимагає складного обладнання, але характеризується тривалістю процесу до декількох днів [18, 19].

Процес гідротермального методу відбувається у закритих системах за температури вище 100°C з використанням води як розчинника і тиску понад 1 атм. Суть процесу полягає у нагріванні вихідних компонентів (прекурсорів наночастинок TiO_2 у суспензії) за заданих температури і тиску. Застосування гідротермального методу ускладнюється необхідністю використання автоклавів з високими тисками (вище 0,1 МПа). Гідротермальний синтез є зручним практичним методом, його перевагою є гнучкість та відтворюваність результатів, можливість керувати структурно-морфологічними характеристиками наночастинок. Найоптимальнішим, а не складнішим методом отримання наночастинок TiO_2 є об'єднання процесів золь-гель та гідротермального [18-20].

Принцип методу осадження базується на процесі коли матеріали в пароподібному стані конденсуються з утворенням твердофазного матеріалу. Процес зазвичай здійснюється у вакуумній камері, і якщо відбувається хімічна реакція, вона називається хімічним осадженням з парової фази і фізичним осадженням з парової фази, якщо реакції не відбувається [19].

В Інституті проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича НАН України (ІПМ) нанопорошок TiO_2 синтезують власним оригінальним методом – термічного розкладу метатитанової кислоти ($\text{TiO}(\text{OH})_2$). Метатитанова кислота є проміжним продуктом переробки титанових концентратів та шлаків. Вона випускається у формі суспензії гідратованого діоксиду титану. Нагріванням даного продукту до температури 600°C зі швидкістю нагріву $5^{\circ}\text{C}/\text{хв}$ одержують анатазну кристалічну форму нанодіоксиду титану [21, 22].

На рис. 1.1 наведено електронно-мікроскопічне зображення наночастинок TiO_2 (виробництва ІПМ) та TiO_2 -P25 (комерційний зразок діоксиду титану TiO_2 -P25 виробництва Evonik Industries AG, Німеччина). Як видно з рис. 1.1a

нанопорошок TiO_2 (ІІМ) містить м'які агрегати, наночастинки переважно розміром 20-30 нм, має розвинуту поверхневу структуру за рахунок наявності мезопор (пори 2-50 нм) і питомої поверхні 50,84 $\text{м}^2/\text{г}$. Наночастинки TiO_2 -P25 мають переважно квадратовидну форму з розміром 20 – 25 нм (рис. 1.1 б).

Характеристика пористої структури нанопорошку TiO_2 (ІІМ), досліджувалась на приладі ASAP 2000M, сумарний об'єм пор становить 0,19 $\text{см}^3/\text{г}$, об'єм мезопор – 0,23 $\text{см}^3/\text{г}$, площа мезопор – 69,1 $\text{м}^2/\text{г}$ [21, 22].

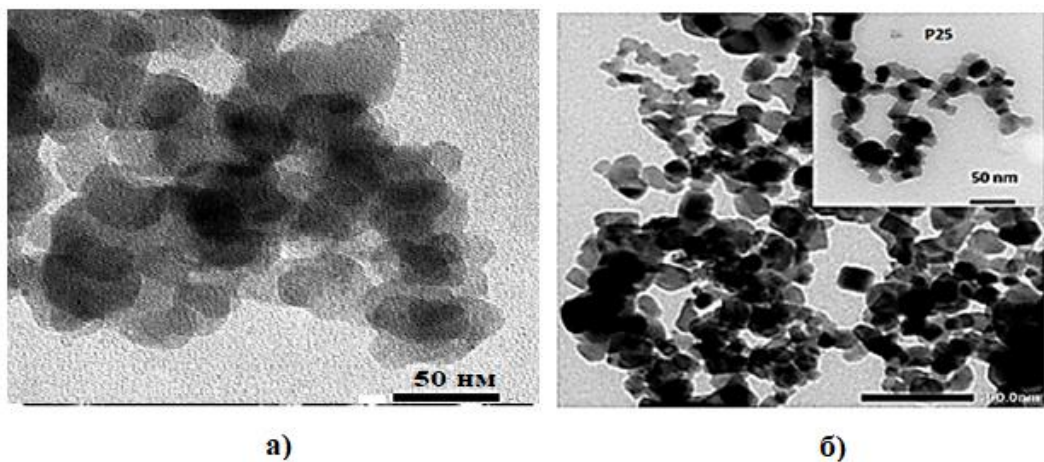


Рис. 1.1. Електронно-мікроскопічне дослідження нанопорошків TiO_2
 а) зображення просвітлюючої мікроскопії поверхні TiO_2 (ІІМ);
 б) зображення просвітлюючої мікроскопії поверхні TiO_2 -P25;

За даними літератури, переважно, для характеристикації наночастинок діоксиду титану, використовують показники їх розміру та морфології будови. Відомо, що різні види наночастинок діоксиду титану характеризуються властивостями, що відрізняються між ними, наприклад за оптичними характеристиками, реакційною активністю, біологічною активністю тощо.

Для детальнішої характеристики наноматеріалів діоксиду титану, можуть використовуватись методи: електронної мікроскопії (просвітлюючої електронної мікроскопії, скануючої електронної мікроскопії з рентгенівською установкою), рентгеноструктурного аналізу, інфрачервоної спектроскопії, визначення питомої поверхні та характеристика їх пористості [3, 19, 21].

1.2. Токсикологічна характеристика впливу наночастинок металів та їх сполук на організм лабораторних тварин, людини, інші біологічні об'єкти

Наночастинки характеризуються особливими фізико-хімічними властивостями, які надають їм кращу здатність до проникнення через усі біологічні бар'єри і вищу реакційну спроможність, що обумовлює їх здатність впливати на внутрішні органи і системи організму, спричиняючи певні патологічні зміни. Ступінь токсичності наночастинок залежить від їх хімічної будови, форми, розмірів, площі поверхні, реакційної здатності, каталітичної активності, проникності та інших характеристик. Наночастинки демонструють відмінні від частинок такого самого хімічного складу, але великого розміру, фізико-хімічні і токсикологічні властивості, причому останні суттєво залежать не тільки від розміру, адгезивних, каталітичних і квантово-хімічних особливостей, їхньої поверхні, ступеня агрегації, а й від суто геометричних характеристик. Наприклад, наночастинки дендритної та веретеноподібної форми мають вищу цитотоксичність, ніж частинки тієї ж хімічної структури, але сферичної форми [12-16].

Повна токсикологічна оцінка наноматеріалів, а також розуміння механізму дії, яка відбувається за участю наночастинок при контакті з живими системами, має вирішальне значення для визначення можливих токсикологічних ефектів, а доза наноматеріалу, яка зумовлює той чи інший ефект, має важливе значення для ідентифікації небезпек та оцінки ризиків використання нанотехнологій [12, 13].

Нанотоксикологія досліджує характер взаємодії наноструктур з біологічними системами, приділяючи особливу увагу відношенню між будовою, фізико-хімічними властивостями та спричиненими токсичними відповідями [23].

Зазнати шкідливого впливу наночастинок металів та їх сполук можуть перш за все працівники, задіяні у їх виробництві, оператори. Основними

шляхами надходження наночастинок металів на робочому місці до організму людини є: інгаляційний, перкутанний, пероральний. Можливе потрапляння наночастинок на слизову оболонку ока (кон'юнктиву) [13, 14]. Це створює ризик розвитку у операторів нанотехнологічних установок професійних хвороб (пневмоконіозів, пухлин, бронхіальної астми, алергічних ринітів, кон'юнктивітів, контактних дерматитів). При виготовленні нанопорошків під час виконання ручних операцій є ризик вдихання працівником повітря робочої зони забрудненого пиловими частинками, як ультрамікроскопічного, так і нанодіапазону, а також потрапляння їх на його одяг, шкіру та слизові оболонки. З сучасних даних літератури відомо, що наночастинок здатні долати біологічні бар'єри, розповсюджуватися по всьому організму та викликати відповідні реакції з боку різних органів і систем, в тому числі імунної [24, 25].

Згідно з даними Наукового комітету з питань безпеки споживачів Європейської комісії значення середньосмертельної дози (LD_{50}), при вивченні гострої пероральної токсичності наночастинок діоксиду титану (нано- TiO_2) на щурах смертельних випадків не було, це дозволило з'ясувати, що їх LD_{50} перевищує 2150 мг/кг [26]. Ці дані підтверджуються дослідженнями авторів [26], де при введенні НЧ TiO_2 в дозах від 2300 мг/кг до 11000 мг/кг з двох тижневим спостереженням смертельних випадків лабораторних тварин не зафіксовано.

Wang J. та співавтори досліджували гостру токсичність НЧ TiO_2 з розмірами 25 нм, 80 нм, 250 нм при пероральному введенні мишам в дозі 5000 мг/кг та вивчали розподіл наночастинок різних розмірів в паренхіматозних органах. Автори встановили, що НЧ TiO_2 після надходження до шлунково-кишкового тракту всмоктуються і транспортуються до інших органів і тканин, накопичуючись у печінці, селезінці, нирках та легенях. Також дослідники відмітили, що більш висока кумуляція наночастинок у органах спостерігалась в разі введення НЧ TiO_2 з меншими розмірами [27].

Vasantharaja D. та іншими проведено порівняльне дослідження впливу НЧ TiO_2 (суміш рутилу та анатазу, 100 нм) в різних дозах 50 мг/кг та 100 мг/кг за умов перорального введення самцям щурів лінії Вістар протягом 14 днів.

Дослідниками виявлено, що доза 100 мг/кг, на відміну, від 50 мг/кг призводила до підвищення показників вмісту глюкози, загального білку, холестерину, ліпопротеїнів високої щільності, АсАТ, сечовини. Автори пов'язують виявлені зміни показників з токсичною дією НЧ TiO_2 переважно на печінку та нирки щурів [28].

Солоха Н.В. досліджувала гостру токсичність нанопорошків нітриду титану та дисиліциду хрому на мишах, які вводились внутрішньошлунково та внутрішньоочеревинно у дозах 500, 1000, 2000, 5000, 7000, 8000, 10000, 13000 та 15000 мг/кг. В її дослідженнях жодна з випробовуваних доз цих нанопорошків не призвела до загибелі тварин. Досліджувані нанопорошки нітриду титану та дисиліциду хрому автором було віднесено до 4 класу небезпечності (малонебезпечні) хімічних речовин [15, 16, 29, 30]. Вона також провела серію експериментів для визначення місцевої подразнючої дії на шкіру і слизову ока нанопорошків нітриду титану та дисиліциду хрому. Автор дійшла висновку, що вони здатні чинити слабковиражену подразнюючу дію на кон'юнктиву кроля, але не подразнюють шкіру морських свинок і кролів [15, 16, 29, 30].

При дослідженні Солохою Н.В. та іншими авторами [15, 16, 31, 32] впливу наночастинок нітриду титану на дихальну систему шляхом одноразового інтратрахеального введення щурам, були виявленні структурні зміни в бронхіальному дереві та респіраторному відділі легень. Через 1 добу та 7 діб наночастинок нітриду титану виявлялись у частині альвеол, а зміни структурної організації клітин проявлялись ушкодженням аерогематичного бар'єру.

Yanmei Duan та інші автори досліджували токсикологічні ефекти у мишей при внутрішньошлунковому введенні анатазу НЧ TiO_2 розміром 5 нм доз 62,5, 125, 250 мг/кг трьома експериментальним групам, відповідно, кожного другого дня протягом 30 днів. Дослідження показало, що у групах мишей, які отримували 125 та 250 мг/кг НЧ TiO_2 протягом 30 днів, спостерігається зниження маси тіла, збільшення коефіцієнта печінки, нирок, селезінки і тимусу, серйозні пошкодження функції печінки. Також було відмічено зменшення кількості лейкоцитів, еритроцитів, гемоглобіну, середньої концентрації гемоглобіну в

еритроцитів, тромбоцитів, ретикулоцитів, Т-лімфоцитів, відношення CD4 до CD8, В-лімфоцитів, NK-лімфоцитів і IL-2 активності. Проте однозначно спостерігалось зростання середнього об'єму еритроцитів, середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті, ширини розподілу еритроцитів по об'єму, тромбоцитів, гематокриту, середнього об'єму тромбоцитів, оксиду азоту [33].

Зінченко Т.О. та інші досліджували токсичний вплив наночастинок срібла в експерименті методом одноразового інтратрахеального введенням щурам 50 мг матеріалу зі спостереженням від 1 доби до 12 місяців з подальшим вивченням морфологічних змін легенів, серця, нирок, печінки та ультраструктури легень. Авторами були виявленні патологічні зміни в легенях, які починались гострим запаленням з розвитком хронічного процесу, наслідком якого були емфізема, пневмосклероз та судинні ознаки легеневої гіпертензії. Також були виявленні патологічні зміни в печінці (білкова та жирова дистрофії гепатоцитів, їх моноцелюлярні некрози, склероз перипортальних трактів), серці та нирках. На субклітинному рівні автори виявили зміни в ультраструктурі легень, що проявилось апоптозом альвеолоцитів I, II типів і ендотеліоцитів, накопиченням колагенових волокон і фібрину, порушеннями в системі синтезу сурфактанту, а також в просвітах альвеол та альвеолярних макрофагів були помітні наночастинки срібла. На думку авторів запальні та дистрофічно-деструктивні зміни в альвеолярному відділі легень внаслідок впливу наночастинок срібла можуть спричинити розвиток патології дихальної функції та в комплексі призвести до функціональних порушень в аерогематичному бар'єрі та в організмі в цілому [29, 34, 35].

Одноразове інтратрахеальне введення НЧ Fe_2O_3 розміром 19 нм у дозі за залізом 10 мг/кг через 21 добу спричиняло незначне збільшення вмісту заліза в легенях, тимусі та нирках, а частинки Fe_2O_3 розміром 400 нм зумовлювали достовірне підвищення заліза в легенях, печінці, селезінці, тимусі та нирках порівняно з показниками в контрольній групі. Цими дослідниками встановлені зміни гематологічних показників у піддослідних щурів після введення Fe_2O_3 з розмірами 19 нм і 400 нм: зниження рівня гемоглобіну, кількості еритроцитів,

зниження абсолютної кількості лімфоцитів і гранулоцитів. Дослідники вважають, що зазначені зміни з боку червоної крові можуть вказувати на порушення процесу синтезу гему та гемоглобіну, а збільшення відсотка моноцитів, на їх думку, вказує на активацію клітин неспецифічного природного імунітету [36].

Luna Rahman та інші провели порівняльну токсикологічну оцінку шести типів наночастинок TiO_2 , які відрізнялись кристалічною структурою (анатаз, рутил, суміш рутилу і анатазу), модифікацією поверхні (гідрофобні або гідрофільні) та розмірами (8, 20 і 300 нм). Зазначені наночастинок TiO_2 вводились одноразово інтратрахеально в різних дозах (18, 54, 162 чи 486 мкг) мишам лінії C57BL/6. Оцінюючи їх вплив на дихальну систему, автори встановили, що індуковане наночастинками гостре запалення легенів після впливу різних досліджених наночастинок TiO_2 є практично однаковими незалежно від властивостей. В той же час авторами було показано, що на довгострокові патологічні ефекти можуть впливати такі специфічні характеристики наночастинок, як форма кристалу і модифікація поверхні. Найбільш активно впливали на дихальну систему нанокристали рутилу, які мали гідрофільну поверхню. Автори роблять висновок, що несприятливий хронічний вплив більш високих доз (162, 486 мкг) певних типів НЧ TiO_2 може призвести до пошкодження тканин та ініціювати пневмофіброзні зміни в легенях протягом тривалого часу [37, 38].

Алексійчук В.Д. у своєму дисертаційному дослідженні, присвяченому вивченню хронічного (3 міс.) токсичного впливу наночастинок свинцю з розмірами 10 нм, 30 нм і 400 нм в дозі 0,94 мг/кг шляхом внутрішньоочеревинного введення щурам, довів їх негативний вплив на гепатобіліарну систему, що проявлялось порушенням білкового, вуглеводного та ліпідного обмінів (змінами вмісту загального білку та його фракцій, активності АсАТ і АлАТ, глюкози, загальних ліпідів та їх фракцій). Біохімічні зміни були підтвердженні морфологічними ознаками дистрофічних змін у гепатоцитах [39-44].

Naima Rihane Ben Younes та інші вивчали у субхронічному експерименті вплив НЧ TiO_2 на самців щурів лінії Вістар, внутрішньоочередово вводючи 20 мг/кг НЧ TiO_2 кожні 2 дні протягом 20 днів. З подальшою оцінкою поведінкових реакції, біохімічних показників, морфології внутрішніх органів через 24 години та через 14 діб після останнього введення. Визначалося підвищення співвідношення ферментів АСТ/АЛТ, активності ЛДГ, збільшення тромбоцитів, патологічні зміни в печінці, збільшення накопичення титану в печінці, легенях і мозку. Автори доходять висновку, що НЧ TiO_2 можуть змінити нервово-поведінкові реакції та зумовлювати морфологічні зміни тканин печінки у щурів [45].

Апихтіною О.Л. та іншими експериментально досліджено хронічний вплив наночастинок сульфід кадмію в дозі 0,08 мг/кг внутрішньоочередовим введенням самцям-щурів лінії Вістар, зокрема на гематологічні показники та накопичення в життєвоважливих органах. Експозиція наночастинами сульфід кадмію призводила до суттєвих морфо-функціональних змін клітин крові, що проявлялось зниженням концентрації гемоглобіну в крові, гематокриту, ураженням клітин еритроцитарного ряду (зменшення кількості еритроцитів, середнього об'єму еритроцитів та зростання показника гетерогенності еритроцитів). З боку клітин лейкоцитарного ряду відзначалось зростання відносної та абсолютної кількості гранулоцитів та зменшення кількості лімфоцитів. Крім того, в зазначених експериментах показано зменшення кількості тромбоцитів, зростання тромбокриту, середнього об'єму тромбоцитів та показника гетерогенності тромбоцитів. Через 1 міс. після припинення експозиції відновлення морфо-функціональних показників спостерігали серед клітин лейкоцитарного ряду, часткове – показників тромбоцитів, незначне – показників клітин еритроцитарного ряду, що свідчить про більшу чутливість еритропоезу до дії наночастинок сульфід кадмію. Також, автори показали найбільш інтенсивне накопичення кадмію в нирках та печінці експериментальних тварин [46, 47].

При вивченні дослідниками гострої дермальної токсичності НЧ TiO_2 встановлено, що LD_{50} перевищує 10000 мг/кг, нанесення цієї дози на шкіру і слизову оболонку ока де випробовувана доза не викликало подразнення шкіри та кон'юнктиви очей у кроликів [26]. Разом з тим при нанесенні косметичних засобів, які містили НЧ TiO_2 на шкіру свиней та модель людської шкіри (human skin) *in vitro* рядом авторів були виявленні цікаві особливості. Досліджувані наночастинки спостерігалися у верхньому роговому шарі епідермісу та у волосяних фолікулах, але вони не проникали у більш глибокі шари епідермісу, дерму та гіподерму [48-50].

Мельник Н.А., вивчаючи експериментально хронічну (3 міс.) дію наночастинок сульфідів свинцю розміром 12,5 нм і 100 нм при нанесенні на неушкоджену шкіру щурів, довела їх здатність до проникнення (резорбцію) через шкіру з подальшим розподілом та накопиченням в органах-мішенях (печінка, нирки, серце) та наступним розвитком токсичних ефектів. Нею встановлено, що токсичні ефекти за умов хронічної дії на шкіру наночастинок сульфідів свинцю проявляються збільшенням активності процесів перекисного окислення ліпідів і пригніченням антиоксидантного захисту організму, метаболічними перебудовами у системі мікроелементного гомеостазу, а також структурними перебудовами в органах-мішенях. На її думку зазначені зміни характеризують розвиток дистрофічних та адаптаційно-компенсаторних змін [51-57].

Також Мельник Н.А. та іншими, було показано, що хронічний вплив на неушкоджену шкіру щурів наночастинок сульфідів свинцю супроводжується морфологічними змінами, які розвиваються в епідермісі, дермі та придатках шкіри і характеризуються атрофією епідермісу, порушенням процесів його кератинізації; диференціацією кератиноцитів, підвищенням проникності базальних мембран та порушенням структури колагенових волокон. На підставі одержаних даних автор припускає, що це підтверджує ефект резорбції наночастинок сульфідів свинцю крізь неушкоджену шкіру [51-57].

З метою розкриття механізму токсичної дії наночастинок на молекулярно-генетичному рівні Зінченко Т.О. та Солоха Н.В. дослідили експресію генів та перекисне окислення ліпідів під впливом наночастинок срібла, нітриду титана і дисиліциду хрому.

Так, Зінченко Т.О. вивчала вплив наночастинок срібла на експресію генів казеїнкінази-1 ϵ , протеїнкінази SNARK та циркадіальних генів (Per1, Per2, Clock, BMal1) в умовах одноразового інтратрахеального введення щурам. Результати її дослідження показали зміни експресії гена: казеїнкінази-1 ϵ та Per1 у легенях, печінці, міокарді та сім'яників щурів; протеїнкінази SNARK у легенях, головному мозку, серці, сім'яниках, печінці та нирках щурів; BMal1 у головному мозку і легенях; Per2 у головному мозку; Clock в печінці та легенях, що відповідають за циркадіальні ритми організму. На думку автора це свідчить про порушення важливих для життєдіяльності організму циркадіальних ритмів, що в свою чергу може спровокувати виникнення різних патологічних станів та активацію процесів онкогенезу. Також автор вказує, що зміни рівнів експресії даних генів можуть слугувати генетичними маркерами ушкоджуючої дії наносрібла на організм [29, 35, 58-62].

Солоха Н.В. дослідила вплив наночастинок нітриду титану на експресію генів та перекисне окислення ліпідів в печінці в умовах субхронічного експерименту на мишах, 40 внутрішньоочеревинних введень по 1000 мг/кг щоденно. За результатами її дослідження виявлено підвищення експресії мРНК: IL13Ra2 рецептора інтерлейкіна, TBX3 транскрипційного фактора, IGFBP3 інсуліноподібного фактора, NAMPT вісфатину, FAS рецептора загибелі клітин та зменшення експресії мРНК: IGFBP1 інсуліноподібного фактора і E2F8 фактору транскрипції, що відповідають за регуляцію метаболізму та апоптоз клітин. Нею також встановлено, що наночастинок нітриду титану здатні збільшувати інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів і пригнічувати активність процесів антиоксидантного захисту [15, 16, 63, 64].

Xuezi Sang та інші співавтори, досліджуючи хронічний вплив НЧ TiO₂ при їх внутрішньошлунковому введенні в дозах 2,5, 5 і 10 мг/кг впродовж 90 діб,

встановили можливе хронічне ушкодження селезінки у мишей. Визначали гістопатологічні та ультраструктурні зміни, гематологічні показники, популяції лімфоцитів, запальні та апоптозні цитокіни у селезінці мишей. Пошкодження селезінки у мишей проявлялось зниженням кількості тромбоцитів, гемоглобіну, імуноглобулінів та CD3, CD4, CD8 лімфоцитів, В-клітин і натуральних кілерів, значного збільшення рівнів імунологічних показників: NF- κ B, TNF- α , MMIF, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-1 β , TGF- β , IFN γ , Hsp70 и Vcl-2 [65]. На думку авторів зазначені зміни можна пов'язати з імунною системою.

На можливе ураження імунної системи у відповідь на введення НЧ TiO₂ вказують також автори [66]. Так, вони довели, у щурів з індукованим овальбуміном алергічним запаленням легень, спостерігається еозинофільна інфільтрація та зменшення IL-4 при інгаляції наночастинок агломерованого діоксиду титану (32 мг/кг протягом 6 та 42 годин після сенсibiliзації) [66].

Chen H.W. та інші з метою вивчення фіброгенної активності наночастинок TiO₂ провів експеримент, де дорослі миші лінії ICR піддавалися впливу внутрішньотрахеальної разової дози 0,1 та 0,5 мг НЧ TiO₂ з розміром 19–21 нм. Тканину легень збирали для морфологічного дослідження (світлової мікроскопії). Встановлено, НЧ TiO₂ здатні викликати емфізему легень, збільшенню кількості макрофагів, порушення альвеолярної перегородки, гіперплазію пневмоцитів типу II і апоптоз епітеліальних клітин [67].

За даними досліджень Солохи Н.В., одноразове інтратрахеальне введення нанонітриду титану щурам призводить до структурних змін в бронхіальному дереві та респіраторному відділі легень. Через 6 і 12 місяців спостереження у цих піддослідних тварин відзначалось розростання колагенових волокон та розвиток пневмосклерозу [15, 16].

Ряд дослідників наводять дані про те, що при пероральному введенні діоксиду титану, який використовують в якості харчового барвника (класу E171), виникає епітеліальна гіперплазія в шлунково-кишковому тракті щурів та мишей [68-71]. Але багато інших досліджень при пероральному введенні даної речовини, не виявили канцерогенного ефекту [68, 72, 73]. Тобто твердження

проте, що пероральне введення TiO_2 викликає пухлини в шлунково-кишковому тракті є суперечливим.

Ряд авторів цілеспрямовано досліджували канцерогенні властивості наночастинок діоксиду титану. Деякі з них вказують, що тривалі інгаляційні дослідження впливу НЧ TiO_2 на щурах призводили до канцерогенного ефекту у легенях [74-77]. Разом з тим дослідження інших авторів продемонстрували відсутність легеневої фіброгенності та канцерогенності НЧ TiO_2 (30 нм) у 26-тижневому дослідженні на мишах лінії gasH2 під впливом інгаляції в концентрації 32 мг/м^3 [73].

Апихтіна О.Л. та інші досліджували цитотоксичність наночастинок міді у концентраціях від $0,0000064$ моль/л до $0,5$ моль/л на культурах клітин нейробластоми людини IMR-32 та недрібноклітинного раку легені A-549. Вони встановили, що наночастинок міді здійснюють токсичний ефект на основні процеси життєдіяльності клітини, а саме синтез білку, роботу лізосомального апарату та мітохондріальних дегідрогеназ [78].

Ю.Б. Паньківська та інші встановили, що наночастинок діоксиду титану мають віруліцидну та антивірусну дію відносно аденовірусу 5 серотипу [6], в експерименті на моделі культури клітин МДВК (культура клітин нирок теляти), на яку НЧ TiO_2 не діють цитотоксично.

Підтвердженою є протигрибкова дія НЧ TiO_2 стосовно *Candida Spp.* та антимікробна активність проти грампозитивних і грамнегативних бактерій, включаючи стійкі до антибіотиків штами [10, 11]

Marina Simon та інші досліджували токсичний вплив НЧ TiO_2 на культурах клітин. НЧ TiO_2 були токсичними на клітини HUVEC (ендотеліальні клітини пупочної вени людини), токсичність була морфологічною і залежною від дози. Наночастинок TiO_2 впливають на проліферацію та життєздатність клітин і це залежить не тільки від дози та морфології наночастинок, але і від типу культури клітин [79].

Загорний М.М. та інші досліджували цитотоксичність на культурах клітин MDCK (нирки собаки) та MDBK (нирки бика) у порівнянні нанодіоксиду титану

та його наноконкомпозитів з різним вмістом срібла в кількості 4 або мас. 8%, встановили, що збільшення концентрації срібла в наноконкомпозиті призводить до підвищення цитотоксичності для клітинних культур [80, 81].

Повніцею О.Ю. та ін. визначено цитотоксичну, віруліцидну та противірусну дію оптично активних наночастинок TiO_2 (20-30 нм), синтезованих в ППМ ім. І.М. Францевича. НЧ мали низьку токсичність у концентрації 0,1 мг/мл. Вперше показано, що фотокаталіз TiO_2 індукований УФ-променями може ефективно інактивувати аденовірус людини, що належить до групи безоболонкових вірусів. Встановлено, що фотоактивованій TiO_2 має пролонговану противірусну активність [4].

Наночастинок діоксиду титану в дозі 1 мг/мл продемонстрували здатність частково знижувати ростові процеси клітин *E. Coli* після 1-годинної експозиції. Наночастинок діоксиду титану модифіковані сріблом 4% пригнічують життєдіяльність і ростові процеси *E. Coli* та *Bacillus. sp.* при введенні дози 1 мг/мл в середовище інкубації та експозиції протягом 1 год [82]. Разом з тим, в якості бактерицидних агентів заслуговують уваги структури на основі модифікованого сріблом діоксиду титану [83]. Більше того, частинки TiO_2 -Ag визнані потенціальним засобом анти-COVID-ної дії [84].

1.3. Гігієнічна оцінка умов праці та стан здоров'я операторів синтезу наноматеріалів

У виробничих умовах наночастинок металів можуть надходити у повітря робочої зони на різних етапах технологічних процесів синтезу наноматеріалів при виконанні тих або інших виробничих операцій, що пов'язані з негерметичністю технологічного обладнання. Як правило, вони при цьому надходять у повітря робочої зони у вигляді ультрамікродисперсних аерозолів, які можуть потрапляти у організм працівників через органи дихання. Крім того, наночастинок металів можуть потрапляти на відкриті ділянки шкіри та слизові оболонки очей, забруднювати спецодяг. Не виключена можливість поступового

осідання наночастинок на поверхні технологічного обладнання, огорожувальних конструкцій тобто утворювання вторинних джерел забруднення. З цих поверхонь наночастинки вентиляційними повітряними потоками можуть підійматися у робочу зону, що створює можливість надходження їх у організм працівників інгаляційним шляхом.

Важливим етапом гігієнічної оцінки технологічних процесів виготовлення наноматеріалів, зокрема нанопорошків, є виявлення їх та ідентифікація, тобто якісна і кількісна оцінка вмісту у виробничому середовищі, в першу чергу в повітрі робочої зони [13].

В умовах виробництва та застосування наночастинок металів можуть проявляти комбіновану, комплексну і поєднану дію з іншими супутніми (хімічними, фізичними, біологічними і психофізіологічними) шкідливими факторами виробництва. Тому при вивченні умов праці доцільно визначати на робочих місцях усі існуючі шкідливі і небезпечні фактори виробничого середовища і трудового процесу [85]. Розглянемо детально, які небезпеки можуть виникати у процесі виготовлення окремих видів і груп нанопорошків і наноматеріалів.

Так, Яворовський О.П., Зінченко Т.О. [13, 35] досліджували умови праці при одержанні наночастинок срібла методом електронно-променевої технології. Цей метод включає три основні етапи: підготовку електронно-променевої установки для проведення випаровування у вакуумі та завантаження злитків срібла і матриці кристалів хлориду натрію; нагрівання і випаровування срібла, отримання нанодисперсного конденсату срібла; розвакуування камери, вивантаження підложки з конденсатом, відокремлення конденсату від підложки, підготовка підложки та камери до наступного завантаження.

Автори встановили, що специфічним і потенційно небезпечним чинником для електронно-променевого виробництва є аерозоль матричного натрію хлориду, який включає власне наночастинок срібла (30 %). Найвищі концентрації аерозолю виявленні при відокремленні матриці NaCl з наночастинками срібла від підложки та очищенні вакуумної камери електронно-

променевої установки (відповідно 0,006 та 2,06 мг/м³). Виявлено, що наночастинки срібла в повітрі робочої зони оператора електронно-променевої установки мають неправильну або округлу форму та виявляють здатність до агрегації. Встановлено, що найбільша їх кількість (78,5 %) має розмір до 50 нм; серед них більшість (49,7%) потрапляє в діапазон від 20 до 30 нм. За результатами їх досліджень найвищі концентрації наночастинок срібла в повітрі робочої зони зафіксовані при очищенні камери – 0,618 мг/м³ та відокремленні конденсату від підложки – 0,0018 мг/м³ [13, 35]. Зінченко Т.О. наводить гігієнічний норматив для наносрібла, прийнятий для повітря робочої зони в США, Австрії, Німеччині, Японії та Швеції (0,01 мг/м³) та робить висновок, що при очищенні вакуумної камери фактичні концентрації наносрібла перевищують зарубіжний норматив більше ніж у 60 разів.

Характеризуючи складові умов праці операторів, автори встановили, що установка є джерелом рентгенівського випромінювання на рівні середньої потужності експозиційної дози 10 мкР/год. При роботі електронно-променевої установки температура злитків досягає 400-1100°C, але мікроклімат виробничого приміщення, особливо не залежав від роботи установки, оскільки вона не є джерелом інтенсивного тепловиділення, а завдяки водяному охолодженню корпусу зовнішня поверхня не нагрівається. За рівнем шуму, що виникає при роботі установки, умови праці авторами оцінені як допустимі. За показниками важкості та напруженості праця оператора відповідала 2 класу умов праці (допустимому).

Дослідженнями, проведеними Яворовським О.П., Шевцовою В.М., Веремеєм М.І. та іншими були встановлені гігієнічні особливості виробництва тугоплавких композитних нанопорошків на основі карбонітридів титану і силіцидів молібдену, хрому, танталу. Зазначені нанопорошки одержують методом високоенергетичної механоактивації в планетарному млині «АІР-0,015» при швидкості обертання барабанів 1370 об/хв з прискоренням 25 g в імпульсному режимі протягом 270 хв [15-16, 85]. Після закінчення процесу барабани вміщують в бокс для охолодження. При досягненні на поверхні

барабанів температури $30 \pm 1,0^\circ\text{C}$ їх розвантажують у витяжній шафі. Одержані нанопорошки відокремлюють від куль протиркою крізь сито № 016. Зібрані порошки пересипають в скляні ємкості та вміщують у ексікатор для запобігання контакту з повітрям. Технологічний процес високоенергетичної механоактивації ультрамікроскопічних порошоків тугоплавких сполук металів включає такі основні операції: завантаження матеріалів для подрібнення та сталевих куль в барабани планетарного кульового млина; заповнення вільного простору в боксі з барабанами аргоном, який повністю витісняє з них повітря; герметизація боксу та здійснення механічного синтезу вихідних матеріалів в процесі роботи млина; ручне вивантаження барабанів з планетарного млина; перенесення барабанів в інше робоче приміщення; вивантаження з барабанів порошку і сталевих куль на сито та очищення їх за допомогою металевого шпателью; просіювання порошку через сито за допомогою гумового корку; зсіпання готової продукції в скляну ємність [15-16]. Встановлено, що ручні операції пов'язані з відкриттям і розгерметизацією барабанів, вивантаженням з них готової продукції нанопорошку та наступного просіювання його крізь сито призводить до пилоутворення і надходження наночастинок у повітря робочої зони.

Для визначення концентрації у повітрі робочої зони, форми та розмірів частинок нанокристалічного порошку дисиліциду хрому авторами був застосований гравіметричний метод, який базувався на відборі проб повітря на водорозчинні нанофільтри (виготовлені з полівінілпіролідону), та наступному електронному мікроскопуванні одержаних, після їх розчинення у воді, зразків суспензії. Було встановлено, що провідним специфічним і потенційно небезпечним виробничим чинником у технологічних процесах одержання нанокompatитних порошоків нітрида титану та силіцидів молібдена, хрому, тантала є надходження нанорозмірного пилу в повітря робочої зони. Масова концентрація наночастинок силіцидів металів в кубометрі повітря та сумарна площа їх поверхні становили $5,35 \text{ мкг/м}^3$ та $1,33 \times 10^8 \text{ нм}^2/\text{см}^3$ відповідно. Наночастинки мають округлу форму, і схильні до утворення конгломератів. Розміри поодиноких наночастинок нітрида титану коливаються в межах від 10

до 75 нм, а їх конгломератів – 100-400 нм і більше. Розмір переважної кількості наночастинок силіцидів металів коливається в межах від 10 до 20 нм [15-16].

В дисертаційному дослідженні Н.В. Солохи, присвяченому фізіолого-гігієнічним і токсикологічним властивостям наночастинок безкисневих сполук металів дисиліциду хрому та нітриду титану, для кількісної оцінки вмісту наночастинок CrSi_2 був застосований метод наносайзометрії з використанням приладу Analysette 12 Dynasizer [15-16].

Нею було визначено загальний вміст наночастинок дисиліциду хрому в 1 см^3 повітря та вивчено їх пофракційний розподіл у повітрі робочої зони оператора до проведення технологічних операцій (фонові показники), під час механосинтезу та при вивантаженні наноматеріалу.

У підготовчому приміщенні в процесі вивантаження готового продукту концентрація наночастинок в повітрі робочої зони суттєво не відрізнялася від фонового рівня (відповідно $50000 \text{ частинок/см}^3$ та $52000 \text{ частинок/см}^3$). Це може свідчити про постійне забруднення повітря підготовчого приміщення наночастинками одержуваних матеріалів. У приміщенні механосинтезу технологічний процес одержання нанопорошків супроводжувався зростанням концентрації ($35000 \text{ частинок/см}^3$) дисиліциду хрому у порівнянні з фоновим рівнем ($30370 \text{ частинок/см}^3$) майже на 13,2 %. Автор припускає, що установка «АІР-0,015» не забезпечує повної герметичності процесу надтонкого помелу. Крім того, треба враховувати, що приміщення механосинтезу також має постійне фонове забруднення наночастинками, хоч і дещо нижче, ніж у підготовчому приміщенні.

Аналіз дисперсного складу наночастинок в повітрі робочої зони виявив переважання в обох приміщеннях частинок фракції 15-30 нм. У підготовчому приміщенні їх питома вага становила від 52% до 56%, а в приміщенні механосинтезу від 59,2 % до 61 %. В діапазонах вимірювань від 0 до 15 нм та від 30 до 100 нм, кількість частинок у кожній з фракцій була меншою порівняно з фракцією 15-30 нм.

Електронна мікроскопія нанопорошків дисиліциду хрому та нітриду титану показала, що наночастинки обох матеріалів мають переважно округлу форму, розмір більшості яких становить 45-50 нм (дисиліцид хрому), а для нітриду титану - близько 20 нм. Крім наночастинок, виявлено також незначну кількість ультрамікроскопічних об'єктів, утворених конгломератами з власне наночастинок, що дає змогу зробити висновок про здатність їх до агрегації.

Досліджуючи супутні фактори умов праці Солоха Н.В. встановила, що середня температура повітря на робочому місці, становила $18,8 \pm 0,4^\circ\text{C}$, відносна вологість $40,5 \pm 2,5\%$, а швидкість руху повітря дорівнювала $0,07 \pm 0,01$ м/с. Дія робіт категорії II-а, до якої згідно з ДСН 3.3.6.042-99 відноситься праця оператора, ці показники знаходились в межах допустимих величин. Величина коефіцієнта природної освітленості для зорової роботи оператора становила 3,6%, що відповідало вимогам ДБН В.2.5.-28-2006 Розрахований нею еквівалентний рівень виробничого шуму не перевищував допустимої величини, наведеної в ДСН 3.3.6.037-99 – 80 дБА. Також, автори дійшли висновків, що за важкістю трудовий процес є оптимальний (1 клас), а за напруженістю відноситься до 3.1 класу (шкідливий 1 ступеню) – за показниками кількості об'єктів одночасного спостереження та емоційного навантаження [15-16].

Співробітники кафедри гігієни та екології № 2 НМУ імені О.О. Богомольця (Яворовський О.П, Солоха Н.В., Веремей М.І.), дали гігієнічну оцінку технологічного процесу одержання композитного нанопорошка нітрида титану методом термосинтезу в Інституті проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича НАН. Це дозволило їм виявити основні шкідливі чинники в ході технологічного процесу, до яких автори віднесли: можливе надходження у повітря робочої зони вихідних речовин (гідроксид титану і сечовина); продуктів реакції термосинтезу (діоксид титану, азот і аміак); а також вплив інфрачервоного випромінювання при проведенні реакції термосинтезу, яка супроводжується нагріванням виробничого обладнання ($800-900^\circ\text{C}$). Розміри частинок нітриду титана, як засвідчують автори, становили близько 20 нм. На етапах вивантаження синтезованого нанопорошку нітрида титану та його

розділення на фракції, за даними авторів, можливим є надходження в зону дихання працівника аерозолів наночастинок порошка та забруднення цим порошком відкритих ділянок шкіри та спецодягу [86].

Дослідженнями Копач К.Д. встановлено, що нанопорошки, як шкідливий виробничий чинник можуть виступати провідною небезпекою не тільки на етапах синтезу, а й в процесі механічної обробки матеріалів, одержаних з використанням наночастинок. За даними автора під час різання, шліфування або свердління таких матеріалів відбувається утворення аерозолів дезінтеграції, які забруднюють повітря робочої зони і містять відповідні наночастинок [87].

У сучасних стоматологічних технологіях широко застосовують нанокompозитні реставраційні матеріали, наприклад, «Filtek Supreme 3M» складається з наноматеріалів цирконію діоксиду (5-20 нм), оксиду алюмінію (5-20 нм), гідроксилапатиту (10-100 нм) і діоксиду силіцію (20 нм), а до складу стоматологічного пластику «Lucitone 199» (Dentsly) входять вуглецеві нанотрубки (50-60 нм). Дослідженнями було показано, що під час стоматологічних процесів шліфування, полірування реставраційних матеріалів і зубних протезів утворюються і потрапляють у повітря робочої зони зубних техніків нанорозмірні аерозолі дезінтеграції стоматологічних матеріалів [93, 94]. Високошвидкісна обробка тканин зуба, зубних імплантів, ортопедичних протезів, ортодонтичних апаратів – викликали утворення аерозолів, а саме значне збільшення у повітрі робочої зони концентрації досліджуваних аерозолів виявляється через 90 – 120 хв. після початку робіт. Проведеними натурними дослідженнями, визначено переважання у складі нанорозмірних частинок ($d = 5-100$ нм) (85,5 %) у повітрі робочої зони виробничих приміщень стоматологічної служби, які за даними досліджень мають максимальну здатність проникнення в легеневі альвеоли. Спостерігалась максимальна концентрація аерозолів з діаметром частинок – 10-25 нм ($11958,6 \pm 3793,0$ частинок/м³) [12, 87].

Солохою Н.В. було організовано проведення поглиблених клінічних досліджень з оцінки стану здоров'я операторів ($n=16$), зайнятих у синтезі нанопорошків тугоплавких безкисневих сполук металів (дисиліциду хрому,

нітриду титана) на виробничих установках Інституту проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича, і контрольної групи працівників (n=20), робота яких не була пов'язана з наноматеріалами. Були встановлені зміни у стані здоров'я операторів синтезу наноматеріалів показників гепатобіліарної системи: підвищення АЛТ на 46,6% та АСТ на 42,3%, зниження коефіцієнта де Рітиса, збільшення косоного вертикального розміру печінки у частини обстежених; з боку серцево-судинної системи: потовщення комплексу інтима-медіа зовнішньої та внутрішньої сонної артерії; підвищення рівня холестерину на 53,7%, підвищення рівня ліпопротеїдів низької щільності на 40,9%, збільшення рівня глюкози крові; також виявленні УЗД ознаки ураження щитоподібної залози, еозинопенією в периферичній крові обстежених осіб, що дозволило припустити наявність алергічної налаштованості організму операторів у відповідь на вплив нанопорошків [15, 16, 24, 85, 86].

Також була досліджена функціональна активність клітин моноцитарно-макрофагального ряду в крові операторів, зайнятих синтезом наноматеріалів, в умовах *in vitro* за продукцією цитокінів першої лінії реагування – інтерлейкіну 1 (IL-1) та фактора некрозу пухлин- α (TNF- α), які у подальшому стимулюють каскад інших цитокінових реакцій та інтерлейкіну 6 (IL-6), як основного індуктора реакцій гострої фази при запаленні, а також інтерлейкіну 4 (IL-4), що вказує на алергізацію процесу. Було показано, що спонтанна продукція інтерлейкінів IL-1, TNF- α , IL-6, IL-4 *in vitro* під впливом наночастинок нітриду титана підвищується більше ніж в 2 рази [15, 16, 24, 85].

Вчені в галузі громадського здоров'я КНР та США вивчали та оцінювали стан серцево-судинної і легеневої систем працівників на виробництві наноматеріалів TiO₂, де у повітрі робочої зони масова концентрація наночастинок становила 1,22 мг/м³, що становить 39% від загальної маси всіх частинок у пакувальному цеху. Дослідження було проведено на групі з 83 працівників, що зазнали впливу наночастинок TiO₂, контрольною групою були 85 працівників, робота, яких не була пов'язана з наноматеріалами. Зазначених працівників фізикально обстежували та визначали біомаркери змін у серцево-

судинній та легеневій системах. Маркерами ураження легень слугували SP-D і легенева функція, маркерами серцево-судинних захворювань – VCAM-1, ICAM-1, LDL і TC, маркерами окисного стресу – SOD і MDA і маркерами запалення IL-8, IL-6, IL-1 β , TNF- α та IL-10. Дослідники довели, що серед цих маркерів найбільш показовим і найчутливішим виявився сурфактантний протеїн D. Їх дані переконливо засвідчили про те, що наночастинки TiO₂ можуть сприяти ураженню органів дихання та серцево-судинної системи у зазначеного контингенту працівників [88].

Отже, підсумовуючи дані клінічної оцінки стану здоров'я операторів, зайнятих виготовленням і застосуванням наночастинок металів, можна зробити висновок про те, що наночастинки металів і їх кисневмісні і безкисневі сполуки здатні чинити політропну дію на організм працівників. Про це свідчить ураження у стажованих осіб гепатобіліарної системи, потовщення інтима-медіа комплексу внутрішньої і зовнішньої сонних артерій, ураження органів дихання та наявність змін з боку щитоподібної залози. Китайські вчені [88] стверджують про те, що маркерами ураження легень слугували SP-D і легенева функція, маркерами серцево-судинних захворювань – VCAM-1, ICAM-1, LDL і TC, маркерами окисного стресу – SOD і MDA і маркерами запалення IL-8, IL-6, IL-1 β , TNF- α та IL-10.

1.4. Заходи профілактики шкідливого впливу наночастинок металів на організм працівників

Зінченко Т.О., яка досліджувала електронно-променевою технологію одержання наноAg встановила, що концентрація наночастинок срібла у повітрі робочої зони оператора може досягати $0,618 \pm 0,004$ мг/м³, що перевищує гігієнічний норматив країн США, Австрії, Німеччини, Японії та Швеції $0,01$ мг/м³ більше ніж у 60 разів. Для оздоровлення умов праці операторів, задіяних в цьому технологічному процесі, нею була запропонована група профілактичних заходів, яка включала наукове обґрунтування гігієнічних

нормативів вмісту nanoAg в повітрі робочої зони з урахуванням їх розмірів, питомої ваги та інших фізико-хімічних властивостей; паспортизацію робочих місць операторів; інформування працівників про ризики; забезпечення засобами індивідуального захисту; проведення медичних оглядів; раціональну організацію загальної та місцевої припливно-витяжної вентиляції; кондиціонування повітря; очищення повітря з використанням фільтрів типу HEPA; використання спецодягу, подвійних нітрилових рукавиць, захисних окулярів та респіраторів, рекомендованих NIOSH [29, 35, 89].

Солоха Н.В., яка виконала дисертаційне дослідження, присвячене профілактиці несприятливої дії нанопорошків дисиліциду хрому та нітриду титану на організм операторів, науково обґрунтувала комплекс заходів щодо оздоровлення їх умов праці. Зокрема, нею використовувалися математичні рівняння, які враховували середньосмертельну дозу, молекулярну масу і кількість атомів в сполучі, для розрахунку ОБРВ застосовувався коефіцієнт нанобезпеки 0,066 [15-16, 90]. Вона запропонувала встановити в якості ОБРВ середню величину, одержану з математичних рівнянь, виведених для кожного з цих нанопорошків: для дисиліциду хрому – $0,5 \text{ мг/м}^3$; для нітриду титану – $0,53 \text{ мг/м}^3$ [15-16].

Алексійчук В.Д. на основі результатів виконаних дисертаційних досліджень, присвячених вивченню впливу наночастинок свинцю на організм та профілактики їх негативної дії, розробив та науково обґрунтував рекомендації щодо попередження можливого негативного впливу наночастинок свинцю на здоров'я працюючих та населення. Ним був розроблений комплекс профілактичних заходів: законодавчі рекомендації щодо вивчення механізмів та обґрунтування підходів до нормування наночастинок свинцю в повітрі робочої зони з урахуванням їх форм, розмірів і інших фізико-хімічних властивостей та розробка методів визначення НЧ Pb у повітрі робочої зони, воді, ґрунті; організаційні: - інформування працівників про ризики, санітарно-просвітницька робота, інформування працівників про необхідність використання індивідуальних засобів захисту; технічні і технологічні рекомендації – створення

замкнених (герметичних) процесів виробництва, які унеможливають потрапляння наночастинок в повітря робочої зони; забезпечення допустимих параметрів мікроклімату; фільтрація повітря робочої зони; медико-соціальні рекомендації – проведення попередніх та щорічних періодичних медичних оглядів; дотримання здорового способу життя, раціональне та лікувально-профілактичне харчування [39, 40].

У 2016 році вперше в Україні було затверджено методичні рекомендації «Гігієнічне нормування та контроль наноматеріалів у виробничому середовищі» [90], що дозволяють з урахуванням коефіцієнтів безпеки (таб. 1.1) для різних речовин (волокнисті, канцерогени, нерозчинні, розчинні) розраховувати та обґрунтовувати ОБРВ р.з. та ГДК р.з. тобто гігієнічно унормувати наноматеріали в повітрі робочої зони. Для встановлення тимчасових розрахункових гігієнічних нормативів (ОБРВ) для наноматеріалів з метою прийняття адекватних управлінських рішень запропоновано використовувати діючі ГДК р.з. речовин, схожих за хімічною будовою та токсичними властивостями, з урахуванням “коефіцієнтів безпеки”.

Таблиця 1.1. Коефіцієнти безпеки для наноматеріалів

Опис (відомості про речовину)	Коефіцієнт безпеки для наноматеріалу
Волокнисті; високий рівень нерозчинності ^a	0,01 волокно/мл
Хімічні речовини 1-го класу небезпеки та такі, що класифікуються як канцерогени, мутагени, гонадотропні чи алергени (категорія КМГА)	0,1
Нерозчинні чи слабо розчинні речовини неволокнистої природи та такі, які не відносяться до категорії КМГА	0,066

Розчинні речовини неволокнистої природи та такі, які не відносяться до категорії КМГА	0,5
---	-----

Примітка. ^a — волокна виявляються як частинки з рівнем $> 3:1$ та довжиною більшою за 5000 нм.

В монографії «Наноматеріали на робочому місці: актуальні питання безпеки праці» [12] співробітниками Інституту медицини праці імені Ю.І. Кундієва НАМН України Леоненко О.Б., Демецькою О.В., Леоненко Н.С. узагальнені та приведені дані щодо встановлених гігієнічних нормативів у Великій Британії, Німеччині, Нідерландах, США, Австралії та Японії. Ці дані наведені в таблиці 1.2.

Таблиця 1.2. Тимчасові безпечні рівні синтетичних наночастинок, концентрація на 1 м³ повітря робочої зони

Наночастинки	BSI, Велика Британія	IFA, Німеччина	DMSA, Нідерланди	NIOSH, США	SWA, Австралія	AIST, Японія
1. Волокноподібні наночастинки						
Карбонові нанотрубки	10 ⁴ в	10 ⁴ в	10 ⁴ в	0,007 мг	10 ⁵ в	0,03 мг
Волокноподібні наночастинки оксидів металів	10 ⁴ в				10 ⁵ в	
Волокноподібні наночастинки, позбавлені азбесто-подібних ефектів		4 • 10 ⁷ ч	4 • 10 ⁷ ч			
2. Біологічно стійкі гранулярні наночастинки з щільністю менше 6000 кг/м ³						
Діоксид титану	0,066 • ГДК р.з.	4 • 10 ⁷ ч	4 • 10 ⁷ ч	0,3 мг	0,03 • Австр. ГДК р.з. інгаляційні або 0,1 • Австр. ГДК р.з. респірабельні	0,61 мг

Чорне вугілля	0,066 • ГДК р.з. або 2 • 10 ⁷ ч	4 • 10 ⁷ ч	4 • 10 ⁷ ч		3 мг	
Кремній	0,066 • ГДК р.з. або 2 • 10 ⁷ ч	4 • 10 ⁷ ч	4 • 10 ⁷ ч		2 мг	
Фулерени	0,066 • ГДК р.з. або 2 • 10 ⁷ ч	4 • 10 ⁷ ч	4 • 10 ⁷ ч		0,03 • Австр. ГДК р.з. інгаляційні або 0,1 • Австр. ГДК р.з. респірабельні	0,39 мг
Оксид цинку, оксид алюмінію, дендримери, полістирол, наноглина	0,066 • ГДК р.з. або 2 • 10 ⁷ ч	4 • 10 ⁷ ч	4 • 10 ⁷ ч		0,03 • Австр. ГДК р.з. інгаляційні або 0,1 • Австр. ГДК р.з. респірабельні	
3. Біологічно стійкі гранулярні наночастинки з щільністю більше 6000 кг/м ³						
Оксид церію, золото, залізо, оксид заліза, срібло, кобальт, лантан, свинець, оксид сурьми, оксид олова	0,066 • ГДК р.з. або 2 • 10 ⁷ ч	2 • 10 ⁷ ч	2 • 10 ⁷ ч		0,03 • Австр. ГДК р.з. інгаляційні або 0,1 • Австр. ГДК р.з. респірабельні	
4. Нерозчинні наночастинки, для яких не визначено ГДК р.з.						
					0,3 мг	
5. Наночастинки, що відносяться до категорії КМА (канцерогени, мутагени, алергени)						
Нікель, кадмій, який містить квантові точки, хром IV	0,1 • ГДК р.з.	2 • 10 ⁷ ч	2 • 10 ⁷ ч		0,1 • ГДК р.з.	
Берилій, арсен, хромат цинку	0,1 • ГДК р.з.	4 • 10 ⁷ ч	4 • 10 ⁷ ч		0,1 • ГДК р.з.	
6. Наночастинки, які віднесено до категорії КМА, для яких не визначено ГДК р.з.						
					0,003 мг	
7. Рідкі та розчинні наночастинки						
Жири, вуглеводи, силоксан		= ГДК р.з.	= ГДК р.з.			
Хлорид натрію	0,5 • ГДК р.з.	= ГДК р.з.	= ГДК р.з.		0,5 • ГДК р.з.	
Інші розчинні наночастинки	0,5 • ГДК р.з.	= ГДК р.з.	= ГДК р.з.		0,5 • ГДК р.з.	

8. Розчинні наночастинки, для яких не визначено ГДК р.з.					
					1,5 мг

Примітка. в – волокон, ч – частинок

Особливо цікавим є той факт, що серед наведених ними понад тридцяти нормативів містяться дані щодо рекомендованих ГДК для наночастинок металів та їх сполук: волокноподібних наночастинок оксидів металів, діоксиду титану, оксиду цинку, оксиду алюмінію, оксиду церію, золота, заліза, оксиду заліза, срібла, кобальту, лантану, свинцю, оксиду сурьми, оксиду олова, нікелю, кадмію, який містить квантові точки, хрому IV, берилію, арсену, хромату цинку, хлорид натрію [12, 91-92]. Так, для нанодіоксиду титану за кордоном прийняті певні нормативи, наприклад у Німеччині і Нідерландах в кількості $4 \cdot 10^7$ частинок в 1 м^3 , в США на рівні $0,3 \text{ мг/м}^3$, в Японії – $0,61 \text{ мг/м}^3$, а в Великій Британії і Австралії за рахунок введення коефіцієнта безпеки до ГДК діоксиду титану в повітрі робочої зони. Можна відмітити неоднозначність підходів до нормування та різні концентрації безпечних рівнів впливу нанодіоксиду титану, що вказує на дискусійність питання вирішення проблеми безпечного поводження з наночастинками діоксиду титану на робочому місці.

Таким чином, з наведеного аналітичного огляду можна зробити узагальнений висновок. В Інституті проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича власним оригінальним методом термічного розкладу, був синтезований нанопорошок діоксиду титану з фотокаталітичним ефектом, що характеризується розміром 20-30 нм, розвиненою поверхневою структурою за рахунок наявності мезопор, питомою поверхнею $50,84 \text{ м}^2/\text{г}$. У проаналізованій нами літературі відсутні детальні характеристики нанопорошку діоксиду титану, а саме дані щодо чистоти і хімічного складу, типу кристалічної структури, дефектності поверхні наночастинок, наявності функціональних груп на поверхні наночастинок. Перспективним є створення наночастинок на основі діоксиду титану з модифікацією металами, зокрема сріблом, і неметалами. В доступній нам літературі також відсутня детальна інформація щодо фізико-хімічних та

токсичних властивостей нанокompозитів діоксиду титану з різним вмістом срібла.

В проаналізованій літературі, наявні тільки фрагментарні дані щодо токсичних властивостей наночастинок металів. Наприклад, наведені дані токсичності металів та їх сполук, зокрема діоксиду титану, срібла, нітриду титану, дисиліциду хрому, оксиду заліза, свинцю, сульфіді кадмію. Зазначені речовини, як правило, характеризуються середньосмертельними дозами вище 10000 мг/кг. Разом з тим в субхронічних і хронічних експериментах наносполуки металів виявляють високу біологічну активність навіть у невисоких дозах, наприклад 0,94 мг/кг наносвинцю і 0,08 мг/кг нанокадмію, при цьому спостерігається ураження лейкоцитарного і еритроцитарного ряду крові, морфологічні зміни в паренхіматозних органах (нирки, печінка), що вказує на їх значну токсичну дію.

Як правило, не мають подразнюючої або мають слабкопозразнюючу дію на шкіру та слизові оболонки лабораторних тварин. Зазвичай наночастинок не виявляють резорбтивної дії, за винятком наносвинцю, який може проникати через епідерміс.

Наночастинок металів здатні до фіброгенного ефекту та можуть призводити до змін з боку імунної системи.

Гігієнічні дослідження показали, що наночастинок, одержані при синтезі нанопорошків методами електронно-променевої технології, високоенергетичної механоактивації, і термосинтезу виступають провідним шкідливим виробничим чинником цих технологічних процесів, забруднюючи повітря робочої зони внаслідок негерметичності виробничого обладнання та наявності значної кількості ручних операцій при роботі з нанопорошками при їх виготовленні та використанні. Дисперсна фаза ультрамікроскопічних аерозолів містить у залежності від виду наноматеріалу наночастинок відповідно: срібла, дисиліциду хрому, нітриду титану, силіциду молібдену і силіциду танталу. Наночастинок та їх сполуки в процесі одержання та використання можуть забруднювати повітря робочої зони, осідати на поверхні обладнання і потрапляти в організм

працівників інгаляційним шляхом, через відкриті ділянки шкіри, слизові оболонки, та всередину шлунка з забруднених рук і з забрудненого одягу наночастинками. Супутніми чинниками виробничого середовища нановиробництва можуть бути іонізуюче і інфрачервоне випромінювання, шум, хімічні чинники, несприятливий мікроклімат, важкість та напруженість трудового процесу.

Клінічні дослідження свідчать, про можливість виникнення у операторів синтезу нанопорошків змін з боку гепатобіліарної, серцево-судинної, дихальної системи та імунної систем.

Серед профілактичних заходів, спрямованих на попередження негативного впливу наночастинок металів та їх сполук провідну роль відіграє гігієнічне нормування їх вмісту в повітрі робочої зони. Для захисту робітників стосовно нанометалів та їх сполук вітчизняними та закордонними авторами розроблені орієнтовно безпечні рівні впливу та гранично допустимі концентрації в повітрі робочої зони. Важливе значення мають заходи спрямовані на забезпечення герметичності виробничого обладнання, зведення до мінімуму ручних операцій і при можливості повної автоматизації процесів одержання та використанню нанопорошків та інших видів наноматеріалів, використовуваних в промисловості.

Публікації за матеріалами розділу 1 [93, 94].

РОЗДІЛ 2

ПРОГРАМА, ОБСЯГ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Нанопорошок TiO_2 синтезовано з суспензії гідратованого $\text{TiO}(\text{OH})_2$ (метатитанова кислота). Вихідну сировину отримували із заводу ПАТ «Сумихімпром» (Україна). Суспензію нагрівали до температури 600°C зі швидкістю нагріву $5^\circ\text{C}/\text{хв}$. Модифікований зразок TiO_2 отримували із $\text{TiO}(\text{OH})_2$ з додаванням водного розчину AgNO_3 у кількості 4 мас. % хімічним осадженням з подальшою термообробкою при $500\text{-}600^\circ\text{C}$ [21, 22]. Зразки нанопорошків були синтезовані в Інституті проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича НАН України.

Гігієнічну оцінку технологічного процесу, виробничого обладнання та фізіолого-гігієнічну оцінку умов праці оператора за важкістю та напруженістю праці, здійснювали з використанням загальноприйнятих гігієнічних, психофізіологічних, хронометражних методів дослідження. Гігієнічні особливості технологічного процесу і виробничого обладнання та організації трудового процесу вивчали за даними технологічної та технічної документації, а також власного спостереження. За допомогою санітарно-гігієнічного обстеження дослідного виробництва були визначені основні джерела і види ризиків можливого впливу шкідливих факторів на організм працівників.

В комплексі несприятливих факторів виробничого середовища проведено визначення і оцінку вмісту наночастинок у повітрі робочої зони виробничого шуму, освітленості, мікроклімату, психофізіологічних чинників.

Концентрацію титану в повітрі робочої зони вимірювали оптико-емісійною спектроскопією з індуктивно зв'язаною плазмою. Крім того, за допомогою аналізатора Analysette 12 DynaSizer («Fritsch», Німеччина) вивчався дисперсний склад наночастинок у відібраних пробах повітря. Робота цього приладу заснована на принципі динамічного розсіювання (лазерна дифракція). Він здатний вимірювати розміри частинок у діапазоні від 1 нм до 6000 нм.

Вимірювання рівнів шуму на робочому місці проводили за допомогою

прецизійного інтегруючого приладу «Larson Davis 800 B» згідно з методами, що передбачені ДСН 3.3.6.037-99 «Санітарні норми виробничого шуму, ультразвуку та інфразвуку».

Дослідження природного та штучного освітлення на робочому місці оператора здійснювалось за допомогою люкметра типу Ю-116 згідно з ДСТУ Б В.2.2-6-97 «Методи вимірювання освітленості. Будинки і споруди». Отримані результати порівнювали та оцінювали з нормативними величинами за ДБН В.2.5–28:2018 «Природне і штучне освітлення».

При вивченні параметрів мікроклімату у виробничих приміщеннях використовували загальноприйняті методи та оцінювали з урахуванням важкості виконуваної роботи та періоду року згідно з ДСН 3.3.6.042-99 «Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень». Вимірювання параметрів мікроклімату проводили за допомогою шарового термометру «Тензор – 41» та кульового кататермометра.

Оцінку важкості і напруженості трудового процесу оператора здійснювали відповідно до критеріїв ДСН «Гігієнічна класифікація праці за показниками шкідливості та небезпечності факторів виробничого середовища, важкості та напруженості трудового процесу», 2014 р.

Вся вимірювальна апаратура, що застосовувалась в дослідженнях, була повірена ДП Всеукраїнський державний науково-виробничий центр стандартизації, метрології, сертифікації та захисту прав споживачів «Укрметртестстандарт» і мала свідоцтво про держповірку.

Комплексна гігієнічна оцінка умов праці здійснювалась за критеріями, наведеними в Державних санітарних нормах та правилах «Гігієнічна класифікація праці за показниками шкідливості та небезпечності факторів виробничого середовища, важкості та напруженості трудового процесу».

В розрізі вивчення фізико-хімічних властивостей синтезованих зразків нанопорошків проведено дослідження їх морфологічних, структурних, хімічних, спектральних та оптичних характеристик за допомогою методів просвітлюючої електронної мікроскопії (ПЕМ), скануючої електронної мікроскопії (СЕМ),

рентгенівського фазового аналізу (РФА), інфрачервоної спектроскопії (ІЧС), комбінаційного розсіювання світла (КРС), низькотемпературної адсорбції азоту, лазерною гранулометриєю.

Морфологію і структуру досліджуваних зразків також визначали за допомогою електронного просвічувального мікроскопа JEM-1400 (JEOL, Японія) при інструментальному збільшенні від 2000 до 100000 та напрузі 80 кВ за стандартною методикою роботи.

Дослідження проводяться на сучасному растровому електронному мікроскопі Tescan Mira 3 LMU, основні характеристики :просторова роздільна здатність: 1 нм - 30 кВ, 2 нм - 3 кВ;- прискорююча напруга: 200 В – 30 кВ; робочий тиск в камері: режим високого вакууму $\approx 9 \cdot 10^{-3}$ Па;- режим низького вакууму 7-150 Па. Детектори: детектор вторинних електронів (ВЕ), детектор пружно відбитих електронів, детектор вторинних електронів вбудований в об'єктивну лінзу, детектор ВЕ для роботи в низькому вакуумі, детектор для досліджень в просвічуючому режимі, енергодисперсійний та хвиледисперсійний спектрометри, система детекторів для реєстрації картини дифракції пружно відбитих електронів.

Також морфологію поверхні і структуру нанопорошків вивчали за допомогою сканувальної електронної мікроскопії (СЕМ). Для цього застосували мікроскоп Mira 3 Tescan (Чехія) з енергодисперсійним спектрометром ZEISS EVO 50 XVP (Великобританія). Порошки вагою 10 мг наносили на відполіровані Si пластини (5 × 5 мм) з подальшим напиленням золота-паладію (1:1) товщиною 30 нм протягом 15 хвилин.

З застосуванням рентгенівського фазового аналізу проведена ідентифікація речовини, здійснено розрахунок параметрів елементарної комірки кристала та середнього розміру кристалітів, виявлена будова кристалічної ґратки. Наприклад, TiO_2 існує у трьох модифікаціях – рутилу, анатазу і брукіту. Кожна з модифікацій має свою будову, а отже, й свою рентгенограму. Структуру одержаних зразків досліджували за допомогою рентгенівського дифрактометра DRON-3M, обладнаного комп'ютерною системою сканування та запису

дифракційної картини з використанням фокусування Бреґга-Брентано з монохроматичним випромінюванням Cu-K_α за методикою [95].

Хімічний елементний аналіз проводили за допомогою СЕМ з використанням енергодисперсного рентгенівського (EDX) аналізатора INCA 450 (OXFORD Instruments).

Дослідження пористої структури нанокompatитних матеріалів проводили адсорбційно-структурним динамічним (експрес-метод дослідження питомої поверхні – прилад ГХ-1) та статичним об'ємним методами на приладі ASAP 2000M (Accelerated Surface Area and Porosimetry System), що призначений для одержання ізотерм адсорбції газів (азот, аргон тощо) за стандартною методикою [96]. Діапазон вимірювання даного методу знаходиться в інтервалі еквівалентних розмірів пір від 0,3 до 300 нм. В даних дослідженнях у якості адсорбційного газу використовували азот.

ІЧ-спектроскопію застосовували для ідентифікації функціональних груп, перш за все органічних ($\text{C}=\text{C}$, NH , $\text{C}-\text{C}$, $\text{C}-\text{N}$) та деяких неорганічних, а саме OH , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , NO_3^- , PO_4^{3-} тощо. ІЧ-спектроскопічні дослідження зразків проводили на Фур'є-спектрометрі ФСМ-1201 в області довжин хвиль 4000-400 cm^{-1} . Для вимірів досліджувані зразки ретельно змішувалися з порошком KBr у співвідношенні (1:300 мг) і отримана суміш пресувалася в прозорі таблетки діаметром 13 мм [97].

Дослідження оптичних властивостей нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ за комбінаційним розсіюванням світла (КРС) здійснювалось Раманівським спектроскопом Horiba Jobin-Yvon T64000 (Horiba, Shanghai, China) [98].

Розмір агломератів наночастинок у дисперсійному середовищі визначали методом лазерної гранулометрії на приладі Analysette 12 DynaSizer.

Місцева-подразнююча дія нанопорошків TiO_2 та $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ досліджувалась аплікацією мазі, одержаної на основі вазеліну і наноматеріалу при змішуванні у співвідношенні по вазі 1:1, на правий бік попередньо депільованої шкіри 5x5 см морських свинок ($n=6$), лівий бік слугував контролем. Оцінювали ступінь

еритеми та величину набряку шкіри протягом 14 діб спостереження після аплікації. Вимірювання товщини шкірної складки на місці аплікації проводили мікрометром. Порівнювали відмінність у подразнені шкіри між дослідними та контрольними групами [99].

Вивчення подразнюючої дії нанопорошків на слизову оболонку очей проводили на кролях, яким одноразово у кон'юнктивальний мішок правого ока кроля вносили 10 мг матеріалу в нативному вигляді нано-TiO₂ (n=3) та нано-TiO₂-Ag (n=3), ліве око слугувало контролем. Оцінювали подразнення слизової оболонки ока за ступенем гіперемії, ін'єкції судин склери і рогівки, набряку, виділеннями з ока протягом 14 діб спостереження після одноразового внесення [99].

Гостра токсичність наноматеріалів TiO₂ та TiO₂-Ag досліджувалась на щурах внутрішньоочеревинним введенням суспензії у фізіологічному розчині (0,9% NaCl) в дозах від 1000 мг/кг до 13000 мг/кг (13 лабораторних тварин). Тривалість спостереження за станом тварин після введення становив 14 діб, оцінювали прояв ознак інтоксикації та летальність. Виводили з експерименту щурів введенням пропофолу 1%. Виконували загальний аналізу крові.

Гостру токсичність нано-TiO₂ та нано-TiO₂-Ag досліджували на мишах в дозах від 3000 мг/кг до 11000 мг/кг для нано-TiO₂ і від 1000 мг/кг до 10000 мг/кг для нано-TiO₂-Ag (контрольна та досліджувані групи по 6 тварин) внутрішньоочеревинним введенням суспензії у фізіологічному розчині (0,9% NaCl). Спостереження та виведення з експерименту проводили за аналогічних умов як у експерименті на щурах. Загальнотоксичну дію вивчали в умовах внутрішньоочеревинного введення суспензій нанопорошків мишам з подальшим розрахунком LD₅₀ за методикою пробіт-аналізу Прозоровського [100].

Гостру токсичність нано-TiO₂ та нано-TiO₂-Ag досліджували на мишах в дозах 4000 мг/кг, 7000 мг/кг, 10000 мг/кг (n=6) внутрішньоочеревинним введенням суспензії нанопорошків, для визначення накопичення хімічних елементів наночастинок у внутрішніх органах і пошкоджуючого впливу на тканину внутрішніх органів тварин.

Шлях для введення наночастинок лабораторним тваринам було обрано парентеральний, а саме внутрішньоочеревинний. Вибраний шлях дозволяє точніше дозувати кількість наночастинок, яку отримали лабораторні тварини, у порівнянні з іншими шляхами введення. Крім того, на відміну від ентерального шляху введення, зазначений шлях дозволяє оминати захисні біологічні бар'єри лабораторних тварин (слизової ШКТ та гепатоцитів печінки).

Нанопорошки суспензували у фізіологічному розчині (0,9% NaCl) з перемішуванням на магнітній мішалці. Контрольній групі тварин вводився фізіологічний розчин (0,9% NaCl), який був використаний як дисперсійне середовище для досліджуваних нанопорошків. Тривалість спостереження за станом тварин після введення становив 14 діб, оцінювали прояв ознак інтоксикації та летальність. На основі даних летальності мишей розраховували пробіт аналізом середньосмертельні дози (LD_{50}) нанопорошків. Виводили з експерименту мишей внутрішньоочеревинним введенням пропофолу 1% з подальшою декапітацією. Частинки внутрішніх органів мишей (печінка, нирки, селезінка, серце, легені, мозок) відбирались загальноприйнятими методами на 14 добу спостереження або посмертно, якщо смерть наступила раніше.

Сенсибілізуючу дію нано- TiO_2 та нано- TiO_2-Ag вивчали за методикою Алексеевої О.Г., Петкевич А.І. на морських свинках (контрольна та досліджувані групи по 4 тварини) внутрішньошкірним введенням суспензій нанопорошків в дозі 200 мкг у вухо морської свинки [101].

Кумулятивні властивості нанопорошка TiO_2 досліджували за методикою Lim et al. [102] в умовах повторного внутрішньошлункового введення шурам.

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

У внутрішніх органах досліджувався вміст елементів Ti та/або Ag відразу або після заморожування. Вміст хімічних елементів Ti та Ag у пробах визначали за допомогою методу оптико-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною

плазмою (ОЕС-ІЗП) на приладі “Optima 2100 DV” фірми Perkin-Elmer (США) [103, 104]. Для побудови калібрувальної кривої для вимірювання вмісту Ті та Аg використовувався багатоелементний стандарт для ОЕС-ІЗП (Merck, Німеччина, каталожний номер 111355.0100), що містить 30 елементів. Точність вимірювань забезпечувалась визначенням елементів у двох паралельних зразках, відносне стандартне відхилення не перевищувало 2%. Наважку органів мишей 0,1 г (для печінки 0,5 г), готували на аналітичних вагах, переносили у автоклав, додавали 3,0 мл концентрованої нітратної кислоти (Merck) та витримували 30 хв. Потім мінералізували у мікрохвильовій печі MARS-one. Після охолодження пробу переносили у мірний посуд та доводили об’єм до 5,0 мл деіонізованою водою. Статистична обробка отриманих результатів виконувалась за допомогою інстальованого в приладі ОЕС-ІЗП WinLab32 програмного забезпечення в операційній системі Windows XP prof.

Для проведення світлової мікроскопії зразки внутрішніх органів мишей фіксували у 10% розчині формаліні (рН 7,4), зневоднювали у ізопропанолі (3 серії, 99,8%), ущільнювали у парафін (3 серії) (Leica Surgipath Paraplast Regular). Парафінові зрізи товщиною 4 мкм виготовляли на мікротомі Thermo Microm НМ 360. Зрізи депарафінували і забарвлювали гематоксиліном та еозином, сіріусом червоним (забарвлення ядер клітин гематоксиліном Вейгерта). Профарбовані зрізи поміщали під покривне скельце, використовуючи синтетичну суміш для виготовлення мікропрепаратів (Merck, Німеччина). Мікропрепарати досліджували на мікроскопі Olympus ВХ51 і фотографували при збільшенні $\times 200$, $\times 400$.

Для скануючої електронної мікроскопії одержували парафінові зрізи товщиною 4 мкм мікротомі Thermo Microm НМ 360, поміщали на скельця діаметром 5 мм, підсушували. Зрізи тканин депарафінували у ксилолі, зневоднювали у еталові (у низхідних концентраціях, від 96% до 70%) та висушували. Підготовлені зразки поміщали у дослідну камеру скануючого електронного мікроскопу Tescan Mira 3 LMU (Tescan Ltd, Чехія), оснащеного

системою мікроаналізу INCA Energy 450 XMax80 (Oxford Instruments Ltd). Зразки досліджували у режимі BSE, SE, при збільшенні 100000-1300000.

У дослідженні впливу наночастинок діоксиду титану та діоксиду титану з сріблом на функціональну активність мононуклеарних клітин крові за продукцією цитокінів залучили 30 здорових донорів-добровольців, у яких після інформованої згоди була взята периферична кров для дослідження *in vitro*.

Мононуклеарні клітини периферичної крові виділяли із застосуванням градієнта щільності фіколл-верографіну (1,076-1,078) і поміщали в культуральне середовище RPMI-1640, що містить, 10% ембріональної телячої сироватки, 40 мкг/мл гентаміцину, 5×10^6 2-меркаптоетанол і 3% L-глутаміну. Клітинну суспензію в концентрації $1,5 \times 10^6$ кл/мл інкубували 24 годин в CO₂-інкубаторі при 37°C без стимулюючого агента, при стимуляції мітогеном ФГА, в концентрації 30 мкг/мл, а також при стимуляції наноматеріалами: нано-TiO₂, нано-TiO₂-Ag по 10 мкл суспензій наночастинок в концентрації 3 мг/мл (30 мкг/мл).

Досліджувану дозу наноматеріалів розраховували, виходячи з масової концентрації наночастинок у кубометрі повітря робочої зони операторів 5 мкг/м³ яка реєструвалась у виробничому приміщенні [86]. У подальшому було вираховано об'єм повітря, який проходить через легені працівника нановиробництва за 20 років стажу, та припущено, що накопичення (поглинання) наночасток з повітря становитиме 10%. Для досліджуваних наноматеріалів використовувалися концентрації розрахованої дози 0,3 мг/кг наночастинок, що відповідає потенційному накопиченню наночастинок в організмі відповідної категорії працівників нановиробництва за 20 років стажу.

Імуноферментним методом (ELISA) в супернатантах мононуклеарних клітин визначали концентрацію цитокінів (IL-1, IL-6, IL-4, TNF- α), тестування проводилося за допомогою імуноферментного аналізатора «Stat Fax-303 Plus».

Дослідження проведені з дотриманням принципів біоетики викладеними у Гельсінській декларації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людей» (протокол засідання Комісії з питань біоетичної експертизи та етики

наукових досліджень Національного медичного університету імені О.О. Богомольця № 128 від 23.12.2019 р.).

Для оцінювання дії наночастинок на основі діоксиду титану на фізіолого-біохімічні характеристики статевих клітин, використовували свіжоотримані еякуляти кнурів ($n=6$). У еякулятах визначали фізіологічні показники: об'єм (мл) і концентрацію сперміїв шляхом підрахунку в камері Горяєва (10^6 клітин/мл). Для досліджень кожен еякулят розбавляли 1:10 фосфатно-сольовим буфером ($\text{NaCl} - 0,8$ г, $\text{KCl} - 0,02$ г, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - 0,11$ г, $\text{KH}_2\text{PO}_4 - 0,02$ г, $\text{MgCl}_2 - 0,01$ г, вода дистильована – до 100 мл) і ділили на частини: контрольну (без додавання нанопорошку) та дослідні – з додаванням нанопорошків діоксиду титану.

Дози титановмісних наноматеріалів для експозиції модельних клітин обирали з урахуванням попередньо встановлених нами параметрів гострої токсичності для теплокровних тварин (значення LD_{50} для мишей самок внутрішньоочеревинно). Дослідні зразки експонували титановмісними наноматеріалами у дозах $1/100 \text{ LD}_{50}$, $1/10 \text{ LD}_{50}$ і LD_{50} перерахованих на мл сперми. Розраховані кількісні дози LD_{50} на мл сперми: для нано- $\text{TiO}_2 - 47$ мкг/мл і для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag} - 7$ мкг/мл.

У контрольних та дослідних зразках визначали такі показники: виживання сперміїв (год.) за температури $18\text{-}20^\circ\text{C}$ – до припинення прямолінійно-поступального руху; дихальну активність – полярографічно (нг-атом $\text{O}_2/\text{хв} \times 0,1$ мл сперми) в термостатованій комірці ($38,5^\circ\text{C}$) з вмонтованим електродом Кларка; активність сукцинатдегідрогенази (СДГ, од/год $\times 0,1$ мл сперми) визначали за вмістом утвореного продукту реакції червоного кольору – червоного формазану впродовж 2 год. інкубування за температури $38,5^\circ\text{C}$ й активність цитохромоксидази (ЦХО, од/год $\times 0,1$ мл сперми) визначали за вмістом утвореного продукту реакції синього кольору – індофенолового синього впродовж 1 год. інкубування за температури $38,5^\circ\text{C}$ [105].

Аналіз результатів досліджень на моделі статевих клітин кнурів здійснювали методами варіаційної статистики з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel 2010. Як міру кореляційного зв'язку між кількісними

змінними, використано кореляційне відношення (η^2). Дані представляли як середнє значення \pm довірчий інтервал при довірчому рівні 95 %. Різницю між контрольними та дослідними даними вважали достовірною при $p < 0,05$ [106].

Статистична обробка отриманих результатів проводилася з урахуванням перевірки показників на нормальний розподіл за критерієм-W Шапіро-Уїлка. Для статистичної обробки використовувалися параметричні критерії статистики: критерій Стьюдента, дисперсійний аналіз, метод множинних порівнянь Шеффе; непараметричні: W-критерій Вілкоксона, ранговий однофакторний аналіз Крускала-Уолліса, множинні порівняння за критерієм Данна. Відмінність вважали статистично значимою при $P < 0,05$. Статистичну обробку даних проведено за допомогою пакету програм MedStat v.5.2 (Copyright © 2003-2019).

Публікації за матеріалами розділу 2 [107-110].

РОЗДІЛ 3

ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ТА ФАКТОРІВ ВИРОБНИЧОГО СЕРЕДОВИЩА ПРИ ОТРИМАННІ НАНОПОРОШКІВ ДІОКСИДУ ТИТАНУ ТА КОМПЗИТУ НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ З НАНОСРІБЛОМ

У лабораторії фізико-хімії і технології нанокераміки і нанокомпозитів Інституту проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича НАН України розроблено технологію термічного синтезу нанокристалічного порошку діоксиду титану (TiO_2) певної дисперсності і будови в неізотермічних умовах через нелінійний нагрів. За розробленою технологією синтез нанопорошків відбувається в спеціальній установці, яка має назву багатосекційної обертової печі. Установа дозволяє синтезувати наночастинки TiO_2 різної дисперсності, будови і структури, та отримувати з певної сировини наночастинки іншого хімічного складу, наприклад титанату барію, на основі різної сировини та за умов задавання необхідних технологічних параметрів [111, 112]. Установа здатна до безперервного синтезу і легко масштабується до промислового використання. Усе це дозволяє характеризувати її, як універсальну установку для синтезу наночастинок. Враховуючи можливі об'єми виробництва наночастинок металів та можливий їх вплив на здоров'я працюючих доцільним та актуальним було проведення гігієнічного дослідження технологічного процесу та умов праці операторів синтезу для визначення шкідливих факторів виробничого середовища та оцінки ризиків.

Нанопорошок TiO_2 синтезують з метатитанової кислоти ($\text{TiO}(\text{OH})_2$ або H_2TiO_3) шляхом її термічного розкладу. Отримують вихідну сировину у формі суспензії метатитанової кислоти із заводу ПАТ «Сумихімпром» (Україна). Перед завантаженням сировини (метатитанова кислота) до зазначеної установки проводять її підготовку, що включає багаторазове відмивання для збільшення рН до заданого рівня, формування гранул певного розміру, просушування до визначеного рівня вологості. Всі операції підготовки метатитанової кислоти

проводяться відкритими (ручними) лабораторними методами та займають декілька діб.

Розроблена технологія синтезу нанопорошку TiO_2 передбачає три етапи: завантаження сировини в багатосекційну піч обертання, прожарювання його в заданих температурних умовах, збір порошку в ємність (рис. 3.1). Гранульований порошок метатитанової кислоти нагрівають до температури $600\text{ }^\circ\text{C}$ зі швидкістю нагріву $5\text{ }^\circ\text{C}/\text{хв}$.

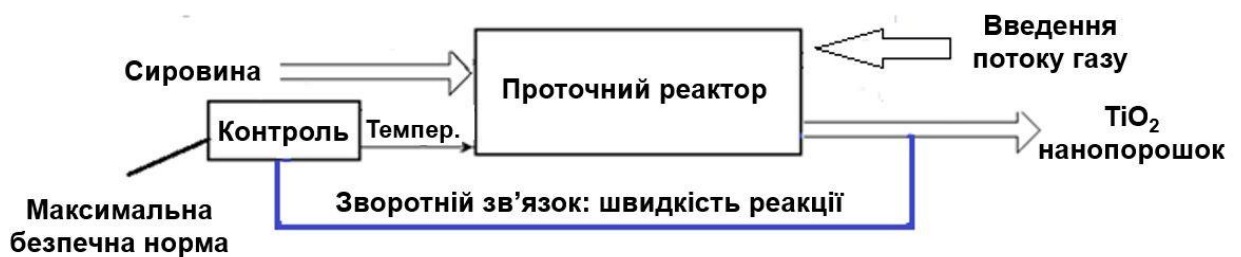


Рисунок 3.1. Принципова схема синтезу нанопорошку TiO_2 з регульованою швидкістю в проточному реакторі зі зворотним зв'язком за швидкістю реакції

Нами встановлено, спеціальна установка являє собою багатосекційну піч обертання, основою якої є труба із нержавіючої сталі, що складається з 14 секцій (рис. 3.2).

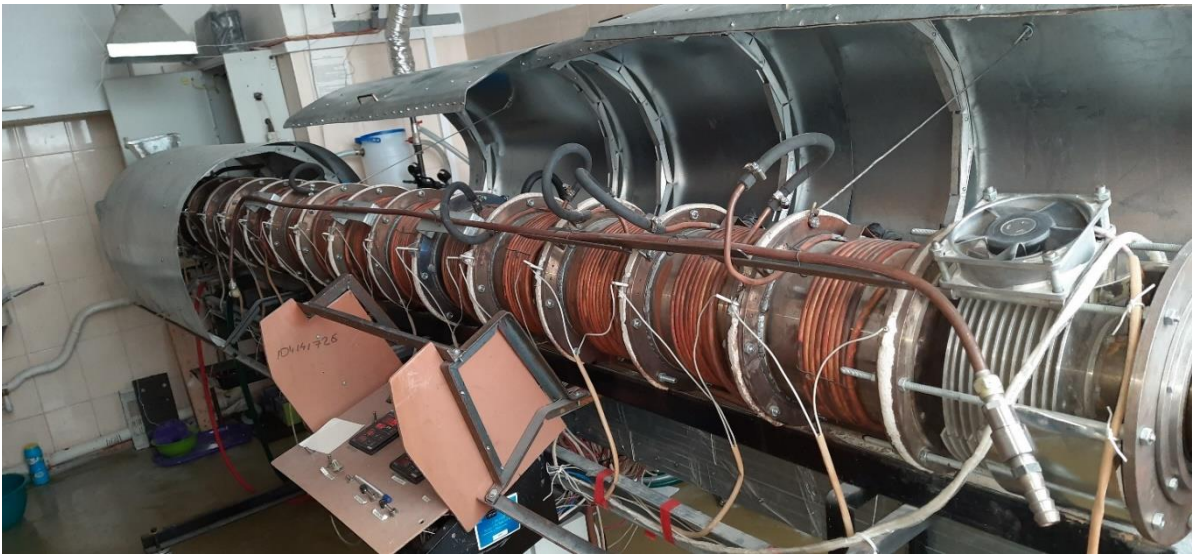


Рисунок 3.2. Загальний вигляд багатосекційної обертової піч для безперервного виробництва нанопорошків діоксиду титану

Робота установки починається з включення і нагріву всіх секцій до заданої в них температури. Оператор контролює піднімання до заданих величин температури в секціях печі для отримання розподілу температури вздовж печі, що відповідає найкращому нелінійному неізотермічному режиму нагріву в експериментально-виробничому реакторі. Терморегулятори враховують теплообмін між секціями і вздовж трубчастого реактора (металевого або керамічного), а також теплообмін через газову фазу (швидкість продування). Кут нахилу, швидкість обертання реактора і швидкість заповнення реактора сировиною розраховують із загального часу перебування порошку в реакторі з метою дотримання всіх швидкостей нагріву для кожної секції.

Заповнення реактора здійснюється вручну через приймальний бункер, що створює можливість потрапляння пилу у повітря робочої зони. Далі реакційна маса за допомогою шнекового пристрою поступово рухається вздовж секцій печі, на виході отримуємо готовий продукт – нанокристалічний порошок діоксиду титану (TiO_2). В процесі власного санітарного обстеження об'єкта було завантажено 200 г сировини до печі (максимальна продуктивність даної установки це 4 кг/годину).

Усередині печі по всій її довжині розташовані лопаті (1 або 2), які перемішують та просувають реакційну масу. Газ (зокрема, повітря) направляють через піч протитечією до руху продукту, забезпечуючи таким чином вихід газоподібних продуктів із зони реакції. Швидкість газового потоку визначається швидкістю виділення та об'ємом газоподібних продуктів реакції, що виділяються під час синтезу, теплообміном вздовж всього реактора і об'ємом наночастинок, що виносяться потоком.

У багатосекційній обертовій печі гранули метатитанової кислоти нагрівають до температури 600 °C зі швидкістю нагріву 5 °C/хв, що забезпечується за рахунок послідовно проходження реакційної суміші через секції печі з різною температурою. Процес синтезу однієї партії нанопорошку діоксиду титану триває близько 3 годин. В процесі роботи печі обертання температура поверхні труби може досягати 300 °C. Тому у процесі роботи печі її зовнішня поверхня охолоджується за рахунок циркуляції води в системі мідних трубок, розташованих на зовнішній поверхні печі. Для охолодження підшипників, розташованих біля першої та останньої секції труби обертання, та електростатичних фільтрів, розташованих поблизу вузла завантаження, передбачено використання електровентиляторів.

Управління технологічним процесом оператор здійснює із пульта керування, на якому розміщені елементи керування і засоби відображення інформації для кожної секції. У зв'язку з модернізацією установки було введено систему дистанційного управління з комп'ютера, що працює за допомогою спеціальної програми. Комп'ютер розміщено у сусідній кімнаті, що дозволяє більш зручно та ефективно контролювати роботу установки.

Готовий продукт (нанокристалічний порошок діоксиду титану (TiO_2)) вивантажується в кінці печі, через ваговий клапан, в закритий контейнер (скляна ємність). Клапан періодично відкривається і в ємність насипається порошок певної маси. При від'єднанні ємності з нанопорошком, можливим є потрапляння наночастинок в повітря робочої зони.

В свою чергу, виробництво нанопорошку діоксиду титану, модифікованого наносріблом, може здійснюватися за визначених технологічних умов в такий саме спосіб, як і нанокристалічний порошок діоксиду титану, що описаний вище. Тобто, нанодіоксид титану, модифікований наносріблом, отримується із метатитанової кислоти ($TiO(OH)_2$) і додаванням водного розчину нітрату срібла ($AgNO_3$) у кількості 4 мас. % шляхом хімічного осадження з подальшою термообробкою при 500-600°C.

Нами були проведені хронометражні спостереження за трудовим процесом оператора під час синтезу нанопорошку діоксиду титану. За результатами хронометражних досліджень було встановлено, що синтез окремої партії готового продукту за часом становить 200 хв, з якого підготовчо-заклучні операції займають 10,0 %, власне оперативна робота – 80,0 %, тоді як перерви в роботі складають 10,0 % від часу робочої зміни. Щільність завантаження робочого часу дорівнювала 90,0 %. Детальний хронометраж робочих операцій наведено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1. Структура виробничої діяльності оператора при синтезі нанокристалічного діоксиду титану методом термічного розкладу (за даними хронометражних спостережень)

№ з/п	Найменування робочої операції	Хвилини	Відсоток (%) від часу робочої зміни
1.	<i>Підготовчо-заклучні операції:</i>		
	- одержання завдання, матеріалу, наладка приладу, вивчення технічної документації, доставка вручну матеріалу зі складу чи лабораторій	10	5,0
	- обслуговування робочого місця, прибирання робочого місця	10	5,0

	<i>Оперативна робота:</i>		
	- включення установки та спостереження за температурним режимом	38	19,0
2.	- завантаження вручну сировини	10	5,0
	- час спостереження за роботою приладу в робочій позі «стоячи»	102	51,0
	- вивантаження готового продукту	10	5,0
3.	Перерва з технічних та організаційних причин	10	5,0
4.	Перерва на відпочинок (регламентована) та природні потреби	10	5,0
Усього:		200	100,0

Оцінку умов праці оператора синтезу було здійснено за показниками та критеріями Державних санітарних норм та правил «Гігієнічної класифікація праці за показниками шкідливості та небезпечності факторів виробничого середовища, важкості та напруженості трудового процесу», затверджених Наказом МОЗ України № 248 від 08.04.2014 р. (далі – Гігієнічна класифікація праці).

При вивченні показників фізичного навантаження встановлено, що оператор за один робочий цикл переносить водяний фільтр масою 6 кг на відстань 9 м 2 рази, сировину масою 200 г на відстань 15 м – 1 раз, ємкість для продукту масою 300 г на відстань 15 м – 2 рази та ємкість з готовим продуктом масою 500 г на відстань 15 м – 1 раз. Зовнішнє фізичне динамічне завантаження при загальному навантаженні (за участю м'язів рук, тулуба, ніг) становить 127,3 кг/м. Згідно з додатком 15 Гігієнічної класифікації праці, пункту 11.1 глави 11 розділу II воно відповідає 1 класу – оптимальний, легке фізичне навантаження (до 22000 кг/м) (таблиця 3.2).

Кількість стереотипних робочих рухів за зміну при локальному навантаженні (за участю м'язів кистей та пальців рук) становить 85-90.

Відповідно до додатку 15 Гігієнічної класифікації праці зазначена кількість рухів відповідає 1 класу (оптимальний, легке фізичне навантаження – до 20000 рухів).

Кількість стереотипних робочих рухів за зміну при регіонарному навантаженні (при роботі з переважною участю м'язів рук та плечового суглоба) становить 15-20. Згідно з додатком 15 Гігієнічної класифікації праці зазначена кількість рухів відповідає 1 класу (оптимальний, легке фізичне навантаження – до 10000 рухів).

Перебування в робочій позі «стоячи» займає 51% тривалості робочої зміни оператора, що обумовлено необхідністю спостерігати за роботою установки. Згідно з додатком 15 Гігієнічної класифікації праці фактичне значення показника відповідає 2 класу (допустимий, середнє фізичне навантаження – до 60%).

Також під час виконання своїх завдань оператор проходить відстань 1,5 км по горизонталі. Відповідно до додатку 15 Гігієнічної класифікації праці дана відстань відповідає 1 класу (оптимальний, легке фізичне навантаження - до 4 км).

Оцінка умов праці оператора за показниками важкості Гігієнічної класифікації праці свідчить, що важкість праці відповідає класу 2 (допустимий, середньої важкості) за робочою позою (таблиця 3.2).

Таблиця 3.2. Оцінка важкості праці оператора синтезу нанокристалічного діоксиду титану з застосуванням багатосекційної печі обертання

№ з/п	Показник важкості трудового процесу	Визначення значення	Значення за Гігієнічною класифікацією праці (п.11.1), додаток 15
1.	Зовнішнє фізичне динамічне навантаження при загальному навантаженні (за участю м'язів рук, тулуба, ніг), кг/м	127,3	до 22000 (клас 1)

2.	Стереотипні робочі рухи, кількість за зміну		
	- при локальному навантаженні	85-90	до 20000 (клас 1)
	- при регіональному навантаженні	15-20	до 10000 (клас 1)
3.	Робоча поза - знаходження в позі «стоячи», % від часу робочої зміни	51	до 60 (клас 2)
4.	Переміщення у просторі по горизонталі	1,5 км	до 4 км (клас 1)

Нами проведено також оцінку напруженості праці оператора, зайнятого синтезом нанопорошку діоксиду титану за групою показників сенсорних та емоційних навантажень. За тривалістю зосередження уваги (в % від часу зміни) визначене нами значення становить 70 %, що відповідає 2 класу згідно з додатком 16 Гігієнічної класифікації праці (допустимий, напруженість праці середнього ступеня (51-75 %)).

Навантаження на зоровий аналізатор характеризується: розрізненням об'єкту 0,7 мм 10% часу, що відповідає 2 класу (1,0-0,3 мм до 50 % часу) згідно з додатком 16 Гігієнічної класифікації праці, а спостереження за екранами відеотерміналів 1,7 годин на зміну, що відповідає згідно з додатком 16 Гігієнічної класифікації праці – класу 1 (до 2).

Нами встановлено також, що оператор несе відповідальність за виконання окремих елементів завдання і одержання якісної продукції синтезу, його помилка не може бути виправлена для партії продукту. Тому емоційне навантаження оператора за показником ступеня відповідальності за результат своєї діяльності та значущості помилки відповідає класу 3.1 шкідливий (напружена праця) 1 ступеню згідно з додатком 16 Гігієнічної класифікації праці за показником ступеня відповідальності напруженості трудового процесу.

Оцінка умов праці оператора за показниками напруженості відповідає класу 3.1 (шкідливий, напружена праця) за показником ступеня відповідальності згідно Гігієнічної класифікації праці свідчить (таблиця 3.3).

Таблиця 3.3. Оцінка напруженості праці оператора синтезу нанокристалічного діоксиду титану з застосуванням багатосекційної печі обертання

№ з/п	Показник напруженості трудового процесу	Визначення значення	Значення за Гігієнічною класифікацією праці (п.11.1), додаток 16
1.	Сенсорні навантаження		
	Тривалість зосередження уваги (в % від часу зміни)	70	51-75 (клас 2)
2.	Навантаження на зоровий аналізатор:		
	- розмір об'єкту розрізнення, мм, % часу зміни	0,7 мм 10 % часу	1,0-0,3 мм до 50 % часу; (клас 2)
	- спостереження за екранами відеотерміналів, годин на зміну	1,7	до 2 (клас 1)
3.	Емоційне навантаження. Ступінь відповідальності за результат своєї діяльності. Значущість помилки	Несе відповідальність за виконання окремих елементів завдання і одержання якісної продукції синтезу.	Є відповідальним за функціональну якість основної роботи (завдання). Вимагає виправлень за рахунок додаткових зусиль всього колективу

		Помилка не може бути виправлена.	(групи, бригади тощо) (клас 3.1)
--	--	----------------------------------	-------------------------------------

Як зазначалось вище, на робочому місці оператора можливе теплове випромінювання від нагрітої труби. Конструкцією обертової печі передбачено водяне охолодження в мідних трубках розміщених по всій довжині труби, а також захисний металевий кожух. Власними вимірюваннями температури поверхні виробничого обладнання не зафіксовано перевищення 18 °С, що вказує на достатність реалізованої системи охолодження.

Нами досліджувались параметри мікроклімату на робочому місці оператора. Було встановлено, що середня температура повітря на робочих місцях не перевищувала допустимих значень згідно з ДСН 3.3.6.042-99 «Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень». Величини відносної вологості та швидкості руху повітря на робочих місцях біля виробничого обладнання знаходилися в межах допустимих величин. Інтенсивність інфрачервоного випромінювання також не перевищувала нормативних величин. Таким чином, параметри мікроклімату біля виробничого обладнання не перевищують допустимих значень та вказують, що встановлена система охолодження зовнішньої поверхні печі і захисні металеві кожухи є достатніми заходами.

Встановлено, що джерелом шуму на робочих місцях оператора є робота вакуумного насосу, двигуна обертання, вентиляторів охолодження, диспергатора, системи місцевої та загальної вентиляції. Загальний рівень шуму на робочому місці оператора становив 72 дБА та не перевищував нормативне значення ДСН 3.3.6.037-99 «Санітарні норми виробничого шуму, ультразвуку та інфразвуку».

В процесі вивчення виробничого освітлення в приміщенні для одержання нанопорошку діоксиду титану було встановлено, що використовується природне та штучне освітлення. Виробниче приміщення облаштоване одностороннім боковим природним освітленням. Виробничі операції, які виконують оператори

синтезу, відносяться до IV розряду зорових робіт (середньої точності, найменший об'єкт розрізнення від 0,5 до 1,0 мм). Величина коефіцієнта природної освітленості згідно з ДБН В.2.5.-28-2018 «Природне і штучне освітлення» для даної зорової роботи має становити не менше 1,5 %, тоді як фактична величина його становить 7,4 %. Тобто рівень природної освітленості даного виробничого приміщення відповідає вимогам.

Інструментальні заміри параметрів мікроклімату, виробничого шуму та освітленості на робочих місцях операторів дослідних установок свідчать про відповідність їх допустимим величинам.

Спільно з співробітниками ДУ «Інституту медицини праці імені Ю. І. Кундієва НАМН України» нами були відібрані та дослідженні проби повітря робочої зони на робочому місці оператора синтезу на вміст ультра- і наночастинок у наступних точках (місце відбору і етап технологічного процесу): біля пульта керування – перед початком роботи (фон), біля вузла завантаження – при загрузці вихідної сировини, біля пульта керування – при працюючій установці, біля вузла вивантаження – при працюючій установці біля місця вивантаження готового продукту. З кожної точки відбору відбрились дві паралельні проби загальноприйнятими методами відбору.

За допомогою методу оптико-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою у відібраних проб повітря робочої зони, була визначена концентрація титану у пробі та перерахована на концентрацію в повітрі робочої зони. Також за допомогою лазерної гранулометрії визначався пофракційний склад частинок для визначення розподілу за розмірами ультра- і наночастинок із застосуванням методів обробки даних Паде-Лапласа і кумулятивного.

Отримані нами результати представлені в таблицях 3.4 і 3.5. Як видно з таблиці 3.4, концентрація титану в повітрі робочої зони коливалася в точках відбору і на різних етапах синтезу нанопорошку діоксиду титану від 0,13 до 3,3 мкг/м³. Концентрація титану в пилу повітря робочої зони була значною перед початком роботи (фонові значення) та становила 1,1-3,3 мкг/м³, що вказує на початкове забруднення виробничого приміщення, внаслідок недостатньо

ефективної вентиляції та прибирання в приміщенні робочої зони. Також при замірах фонових значень було зафіксовано фракції ультра- і наночастинок (таблиця 3.5). Під час технологічного синтезу нанопорошку діоксиду титану діапазон концентрації титану в повітрі робочої зони коливався від 0,13 до 2,0 мкг/м³, при цьому склад фракцій пилу був представлений нанодіпазоном (рисунок 3.3, таблиця 3.4).

Таблиця 3.4. Концентрація титану в повітрі робочої зони при синтезі нанопорошку діоксиду титану

Точки відбору проб	Концентрація титану в повітрі робочої зони, мкг/м ³	ГДК титану, мкг/м ³	Розраховане ОБРВ НЧ TiO ₂ , мкг/м ³	ОБРВ NIOSH, (США) НЧ TiO ₂ , мкг/м ³
Фон, перед початком роботи (біля пульта керування)	2,2 (ВІ 1,1-3,3)	10	0,66	0,3
Період завантаження сировини (біля вузла завантаження)	0,5 (ВІ 0,3-0,7)			
Процес синтезу (біля пульта керування)	0,87 (ВІ 0,13-1,6)			
Період вивантаження готового продукту (біля вузла вивантаження)	1,85 (ВІ 1,7-2,0)			

Як відомо, ГДК для титану та його діоксиду в повітрі робочої зони становить 10 мкг/м³. Використання коефіцієнтів безпеки, запропонованих методичними рекомендаціями «Гігієнічне нормування та контроль наноматеріалів у виробничому середовищі», дозволяє розрахувати ОБРВ в

повітрі робочої зони для наночастинок діоксиду титану, яке відповідно становить $0,66 \text{ мг/м}^3$: $\text{ОБРВ}_{\text{р.з.}} = 10 \text{ мг/м}^3 \times 0,066 = 0,66 \text{ мг/м}^3$. Оцінюючи концентрацію титану в повітрі робочої зони на етапах виробництва нанопорошку діоксиду титану, перевищень ГДК титану і ОБРВ наночастинок діоксиду титану не було зафіксовано.

Таблиця 3.5. Переважна фракція ультра- і наночастинок за розміром в повітрі робочої зони при синтезі нанопорошку діоксиду титану

Точки відбору проб	Переважна фракція частинок (метод Паде-Лапласа), нм	Переважна фракція частинок (кумулянтний метод), нм
Фон, перед початком роботи (біля пульта керування)	203,43 (ВІ 97,75-309,11)	182,14 (ВІ 68,98-295,29)
Період завантаження сировини (біля вузла завантаження)	85,23 (ВІ 81,30-89,15)	44,82 (ВІ 40,57-49,06)
Процес синтезу (біля пульта керування)	139,0 (ВІ 123,06-154,92)	160,97 (ВІ 34,93-287,00)
Період вивантаження готового продукту (біля вузла вивантаження)	251,86 (ВІ 234,49-269,22)	182,26 (ВІ 137,67-226,85)

У відібраній пробі повітря робочої зони біля пульта керування в процесі синтезу нанопорошку діоксиду титану спостерігаємо найбільше за кількістю частинок з середнім діаметром $34,93 \text{ нм}$ та з домінуванням фракції $19,5\text{-}38,91 \text{ нм}$ (рисунок 3.3, таблиця 3.5).

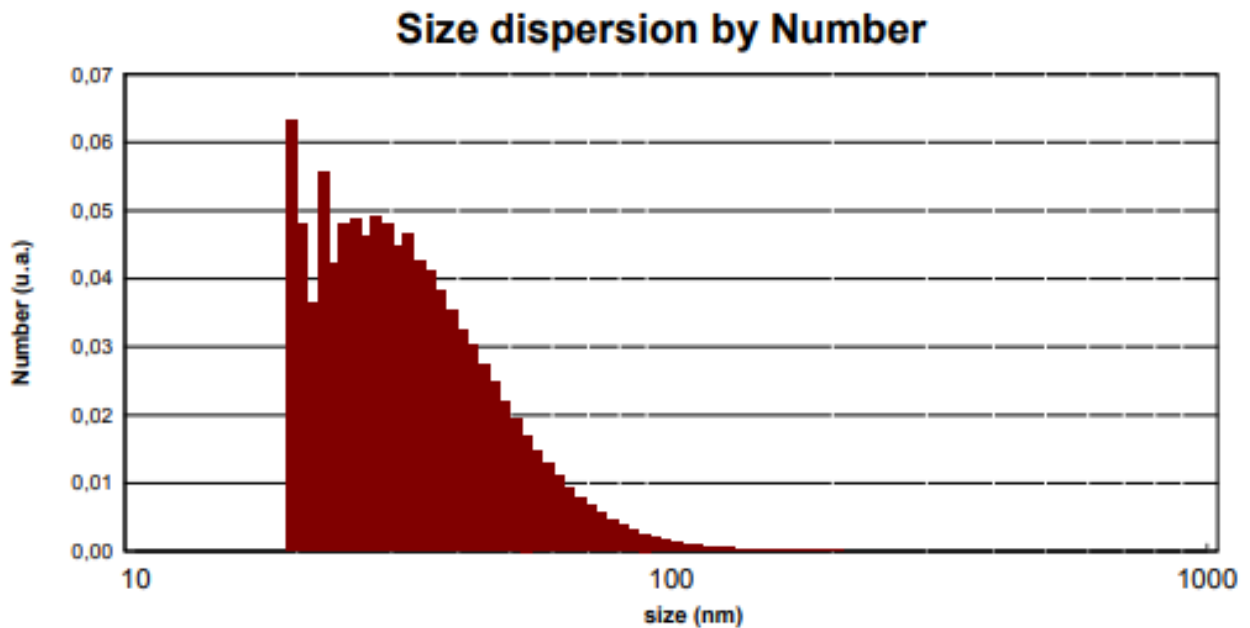


Рисунок 3.3. Пофракційний розподіл наночастинок діоксиду титану за кількості в повітрі робочої зони біля пульта керування багатосекційної обертової печі

Отже, загальна оцінка умов праці оператора за ступенем шкідливості та небезпечності за показниками важкості, мікроклімату, шуму і освітленості відповідає класу 2 (допустимий), а за напруженістю трудового процесу – класу 3.1. (шкідливий 1 ступеня) за показником ступеня відповідальності.

За хімічним фактором досліджували наявність титану в повітрі робочої зони, що не перевищує ГДК та дозволяє віднести умови праці до 2 класу (допустимого). Але були виявленні фракції наночастинок діоксиду титану, що не дозволяє оцінити, оскільки відсутній обґрунтований норматив наночастинок в повітрі робочої зони. Тому наявність наночастинок діоксиду титану свідчить про ризик для оператора, що не може бути оцінений, оскільки відсутній затверджений норматив.

За результатами проведених гігієнічних досліджень умов праці оператора, оцінки технологічного процесу безперервного термічного синтезу нанопорошку діоксиду титану слід відзначити, що останній характеризується нервово-емоційним напруженням працюючого та наявністю ряду шкідливих виробничих

чинників у повітрі робочої зони, а саме пилу сировини і наночастинок діоксиду титану.

Таким чином, ризиками забруднення повітря робочої зони наночастинками діоксиду титану є вивантаження готового продукту, недостатня герметичність системи протягування повітря через піч (що є складовою технологічного процесу), технічного обслуговування (регламентованого, позапланового, у разі зміни продукту синтезу), аварійного порушення герметичності складових установки.

Публікації за матеріалами розділу 3 [113-115].

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ МОРФОЛОГІЧНИХ І СПЕКТРАЛЬНИХ ХАРАКТЕРИСТИК НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ ТА КОМПЗИТНОГО МАТЕРІАЛУ НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ З НАНОСРІБЛОМ

Об'єктами наших досліджень слугували нанопорошки діоксиду титану (нано- TiO_2) та композиту діоксиду титану з сріблом (нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$), які були надані відділом фізико-хімії і технології наноструктурної кераміки та нанокompозитів Інституту проблем матеріалознавства І.М. Францевича НАН України. За допомогою спеціальних методів дослідження нами була проведена ідентифікація і порівняльна характеристика зразків нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ за хімічним складом, структурою, типом кристалічної ґратки, розміром частинок, площею питомої поверхні, морфологією поверхні, поверхневими функціональними групами, здатністю до агломерації та іншими фізико-хімічними властивостями.

Дослідження та аналіз морфології нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ проведено з використанням методів просвічуючої електронної мікроскопії (ПЕМ) за допомогою мікроскопа JEOL JEM-1400 (Японія) при збільшенні від 2000 до 100000 та напрузі 80 кВ, а також скануючої електронної мікроскопії (СЕМ) за допомогою мікроскопа Tescan Mira 3 LMU (Чехія) при збільшенні від 1000 до 100000 та напрузі 10 кВ. Для характеристики поверхневої структури нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ визначали їх площу питомої поверхні і пористість матеріалу методом теплової десорбції азоту на приладі ГХ-1.

Результати дослідження ПЕМ і СЕМ нано- TiO_2 наведені на електронно-мікроскопічних зображеннях на рис. 4.1 і 4.3. Встановлено, що нанопорошок TiO_2 містить м'які агрегати, наночастинки переважно розміром 20-30 нм. Нанопорошок TiO_2 має розвинуту поверхневу структуру за рахунок наявності мезопор (пори 2-50 нм) і питомої поверхні 50,84 м²/г.

ПЕМ-зображення поверхні зразка нанокompозиту $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ показало осадження срібла на поверхні оксиду (рис. 4.2). Спостерігаються «кулько-

подібні» частинки срібла (обведені червоним ділянки). Частинки Ag мають середній розмір 35-40 нм, а частинки TiO_2 13-20 нм. СЕМ дослідження (рис. 4.4) підтверджує розмірність зразка нано- TiO_2 -Ag. Площа питомої поверхні нано- TiO_2 -Ag становить $50,11 \text{ м}^2/\text{г}$.

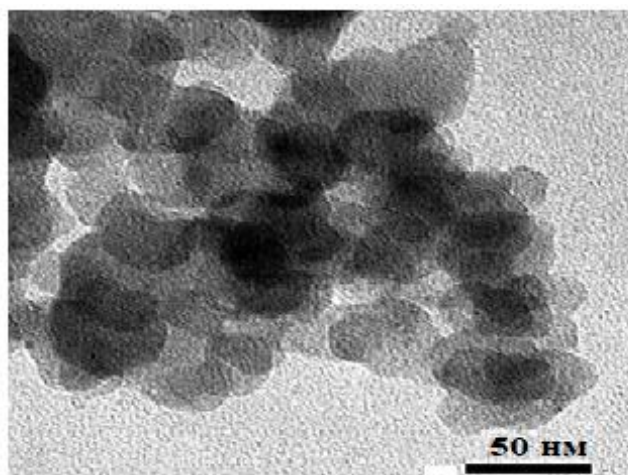


Рис. 4.1. Зображення будови нано- TiO_2 встановленої методом просвітлюючої електронної мікроскопії за допомогою JEM-1400 при збільшенні від 2000 до 100000, шкала 50 нм

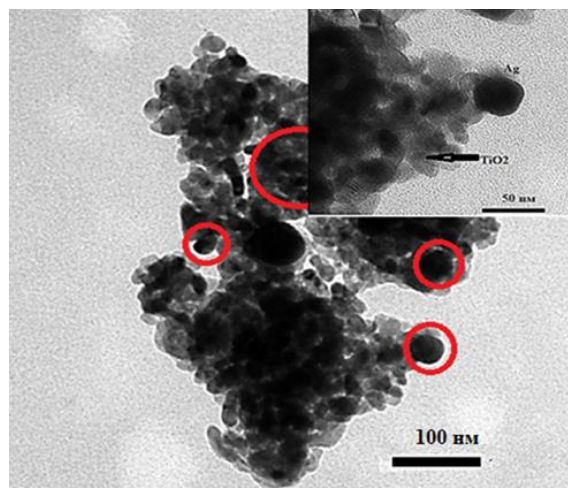


Рис. 4.2. Зображення будови нано- TiO_2 -Ag, встановленої методом просвітлюючої електронної мікроскопії за допомогою JEM-1400 при збільшенні від 2000 до 100000, шкала 100 нм і 50 нм

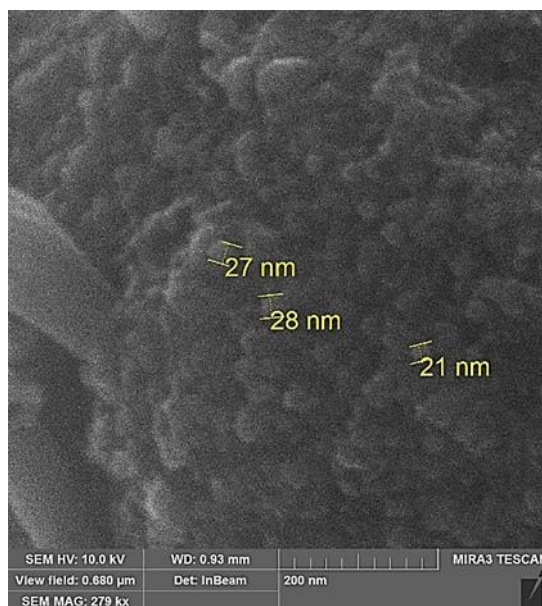


Рис. 4.3. Зображення будови nano-TiO_2 , встановленої методом скануючої електронної мікроскопії за допомогою Tescan Mira 3 при збільшенні 279000, шкала 200 нм

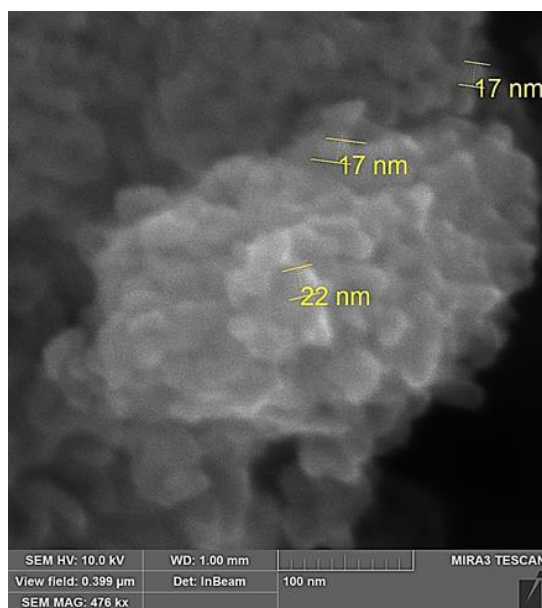


Рис. 4.4. Зображення будови $\text{nano-TiO}_2\text{-Ag}$, встановленої методом скануючої електронної мікроскопії поверхні за допомогою Tescan Mira 3 при збільшенні 476000, шкала 100 нм

Застосування методу енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії (EDX) (рис. 4.5) показало, що вміст хімічних елементів для nano-TiO_2 становить:

титану (Ti) – 49,92 мас.%; кисню (O) – 49,07 мас.%; сірки (S) – 1,01 мас.%. Вміст елементів для модифікованого зразка нано-TiO₂-Ag (рис. 4.6) дорівнює: Ti – 49,06 мас.%; O – 46,18 мас.%; срібла (Ag) – 3,58 мас.%; натрію (Na) – 0,66 мас.%; S – 0,53 мас.%. Наявність сірки у зразках виробниками пояснюється, тим що сировина TiO(OH)₂ синтезована за спеціальною технологією заводу «Сумихімпром» у сірчаній кислоті. Навіть при підготовці прекурсора багаторазовим вимиванням сировини залишок сірки присутній в кінцевому продукті. Вміст натрію наявний у зразку тому, що додавався луг (зародкоутворювач діоксиду титану анатазної модифікації) згідно з технологією синтезу. У зразках також є незначна кількість вуглецю. Розраховано співвідношення Ti/O для нано-TiO₂ – 1,017 та для нано-TiO₂-Ag – 0,941, що свідчить про нестехіометрію (несумірність елементів) досліджених нанопорошків (Ti/O < 2).

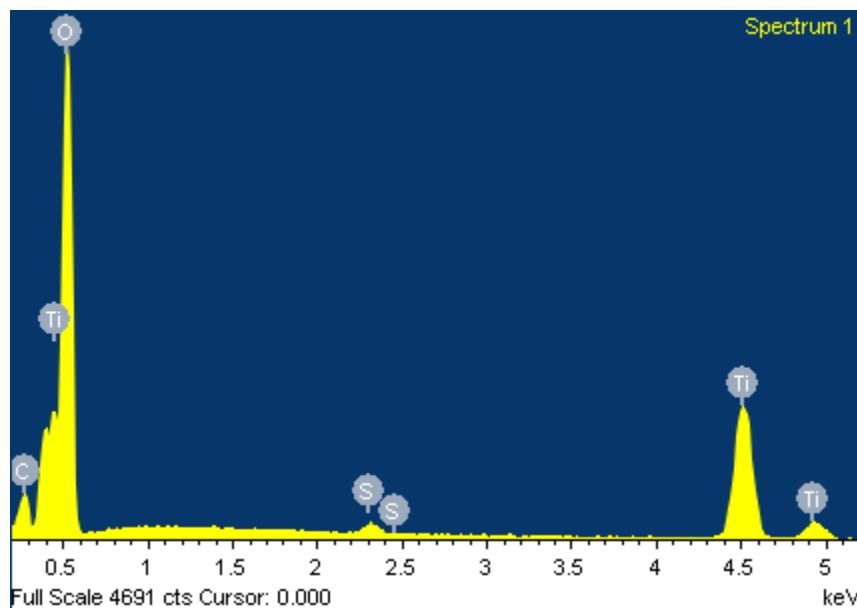


Рис. 4.5. Спектральний кількісний аналіз елементного складу нано-TiO₂ за результатами енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії

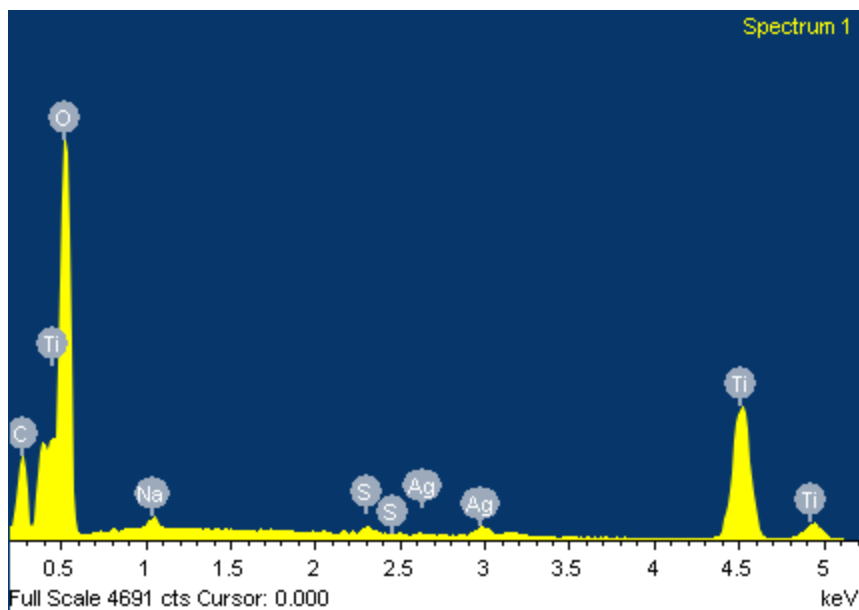


Рис. 4.6. Спектральний кількісний аналіз елементного складу nano-TiO₂-Ag за результатами енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії

Рентгенофазовий аналіз (РФА) використовувався для дослідження структури кристалічних і аморфно-кристалічних речовин. В основу цього методу покладено явище дифракції рентгенівських променів на кристалічній решітці. Для ідентифікації типу кристалічної фази (рутил, анатаз, брукіт) нанопорошків TiO₂ і TiO₂-Ag нами був застосований рентгенівський фазовий аналіз.

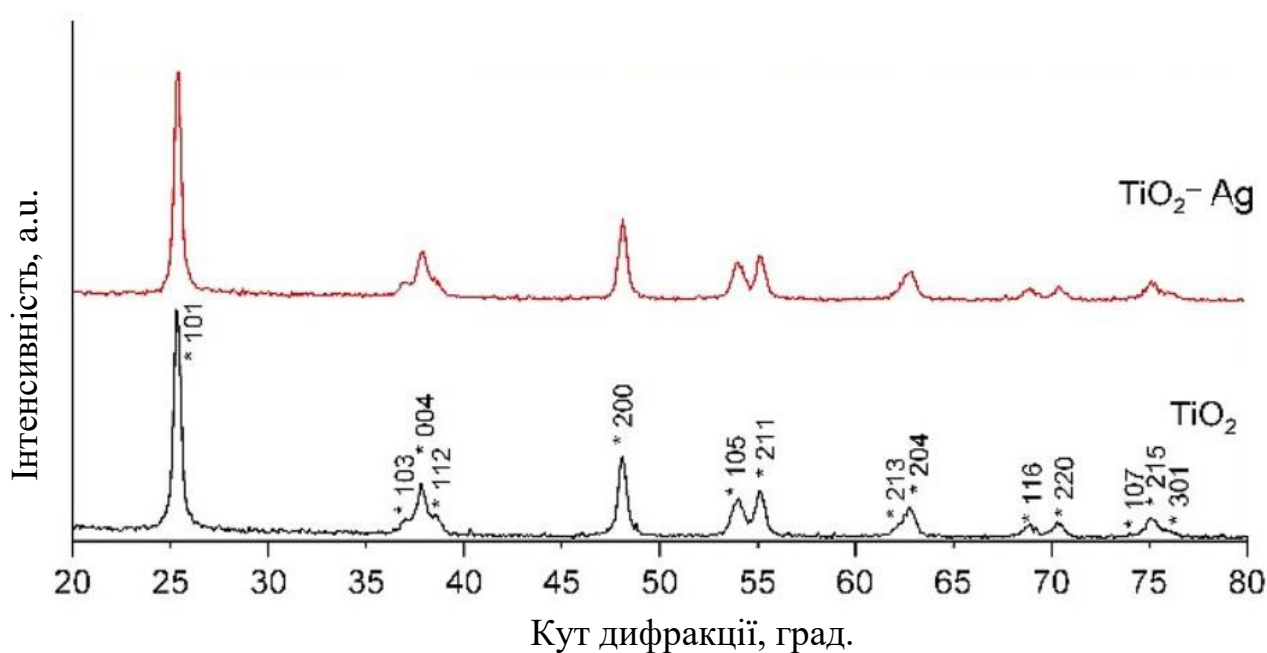


Рис. 4.7. Рентгенограма нанопорошків TiO₂ і TiO₂-Ag

На рис. 4.7 показані піки дифракції рентгенівських променів нанопорошків TiO_2 та Ag-TiO_2 , в області кутів дифракції $25-27^\circ$, 37° , 55° , 62° , що відповідає площинам (101), (112), (200) і (204), які характеризують структурні параметри кристалу. Піки для Ag , AgO не спостерігались. На основі кутів дифракції було розраховано додаткові параметри ширину на рівні половини амплітуди та міжплощинну відстань. Це дозволило за стандартними картками встановити, що ці сигнали типові для фази анатазу для зразків нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$. Задачею виробників було отримання власне анатазної фази нанодіоксиду титану, оскільки вона є більш хімічно активною.

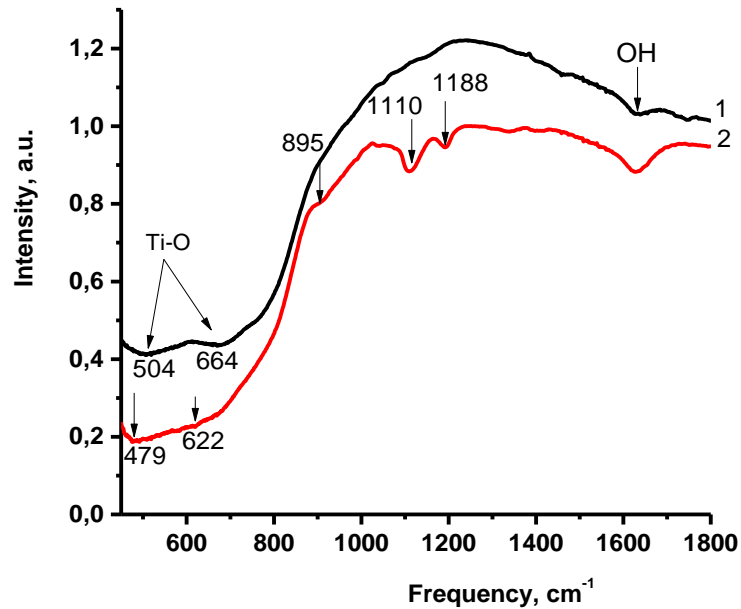
Відсутність піків, характерних для срібла в структурі кристалу, СЕМ і ПЕМ зображення поверхні зразків нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ та EDX аналіз показують осадження срібла на поверхні діоксиду титану.

Крім того, у зразках TiO_2 в області концентрацій металу 2,0-3,8 мас.% автори Der-Shing Lee, Yu-Wen Chen [116] також не спостерігали утворення інших фаз, окрім TiO_2 анатазної модифікації. Наночастинки срібла не розчиняються в оксиді діоксиду титану, вони знаходяться на поверхні, що змінює поверхневу структуру нанопорошку $\text{TiO}_2\text{-Ag}$.

Інфрачервона спектроскопія (ІЧ-спектроскопія) використовувалась для ідентифікації і дослідження будови органічних і деяких неорганічних сполук, структури кристалів, визначення функціональних груп у хімічних сполуках, а саме C=O , OH , NH_2 , тощо.

Для якісного аналізу функціональних груп зразків нанопорошків було використано інфрачервону спектроскопію (рис. 4.8). Для першого зразка нано- TiO_2 характерна проява смуг поглинання коливань Ti-O з частотами 504 і 664 см^{-1} (рис. 4.8, кр. 1). Для ІЧ-спектру другого зразка нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ спостерігається зсув частот поглинання Ti-O коливань в довгохвильовий бік 895 , 1110 , 1188 см^{-1} (рис. 4.8, кр. 2). Зсув характеристичних коливань зв'язку Ti-O в сторону менших частот 479 і 622 см^{-1} при модифікуванні анатазу сріблом викликано спотвореннями симетрії координаційного оточення Ti^{4+} . Зміна форми смуг поглинання Ti-O коливань та прояв смуги поглинання з частотою 895 см^{-1}

характеризує спотворення титан-кисневих октаедрів. Частоти 1110 і 1188 cm^{-1} характеризують поверхневі коливання функціональних груп (-ОН), та пов'язані з модифікуванням наночастинок діоксиду титану наносріблом (рис. 4.8 кр. 2).



1 – нано- TiO_2 ; 2 – нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$

Рис. 4.8. Інфрачервона спектроскопія нанопорошків на основі діоксиду титану

Спектральні дослідження доводять утворення лише кристалічної анатазної модифікації з гідроксильними групами та фазою срібла (узгодження з РФА). Наявні гідроксильні групи на дефектній поверхні TiO_2 стають досить активними внаслідок захоплення дірки з подальшим утворенням $\bullet\text{OH}$ та інших активних форм кисню (іон радикали $\bullet\text{OH}$, $\text{O}_2^{\bullet-}$, $\text{O}^{\bullet-}$), що призводить до підвищення адсорбційної здатності й біологічної активності анатазу. Окрім вакансій кисню, також можуть бути присутні інші поверхневі дефекти для анатазу в залежності від методу синтезу, хімічного складу повітря, у якому зберігається порошок, умов зберігання (наявності чи відсутності світла).

Відносна кількість поверхневих гідроксильних груп для зразків TiO_2 (ІЧ-аналіз) дуже важлива для антимікробних і фотокаталітичних властивостей, бо в процесі УФ опромінення ОН групи на дефектній поверхні TiO_2 є досить активними для деструкції токсичних органічних речовин, патогенних

мікроорганізмів, включаючи віруси внаслідок захоплення дірки з подальшим утворенням $\bullet\text{OH}$ радикалів [4]. Крім того, наявність срібла забезпечує ефективний процес фотогенерування електронів, їх перенесення з зони провідності Ag до зони TiO_2 з подальшим формуванням бар'єру Шоттки, який гальмує швидкість рекомбінації фотогенерованих зарядів [117].

Поверхневі структурні дефекти TiO_2 (утворення на поверхні анатазу нестехіометричних ділянок) можуть виступати як активні центри, а також надають можливість додаткового хімічного модифікування поверхні оксиду металом (нано-Ag) для цілеспрямованого регулювання структури TiO_2 й проведення каталітичних реакцій, підвищення біологічної активності, зокрема біоцидної дії.

Зменшення розміру частинок TiO_2 при заміщенні іонів Ti^{4+} іонами Ag^+ може бути пов'язане з осадженням срібла на поверхні TiO_2 , що призводить до порушення структурної симетрії (узгодження з ІЧ-спектроскопією), а отже, і до зменшення розмірів наночастинок [116]. Це нами доведено ПЕМ дослідженнями зразків.

Вплив дефектних позицій Ti^{4+} на поверхневий стан можливий, виходячи з розмірності частинок TiO_2 . Причину утворення значної концентрації вірогідних парамагнітних центрів Ti^{4+} в решітці зразка анатазу, мабуть, слід шукати в умовах температурного режиму обробки нанопорошку. У діапазоні термообробки до $600\text{ }^\circ\text{C}$ може відбутися часткове відновлення Ti^{4+} і втрата кисню, яка починається з поверхні зерен. Наявність поверхневих дефектів Ti^{4+} зменшує ширину забороненої зони діоксиду титану і сприяє тому, що фотокаталітичний процес може ініціюватися фотонами ближче до краю видимого діапазону.

Спектроскопія комбінаційного розсіювання світла (раманівська спектроскопія) – це спектроскопічний метод, що базується на ефекті розсіювання світла, під час якого відбувається зсув довжини хвилі розсіяного світла, за яким характеризують сполуку. Проте, окрім частоти, рівної частоті коливання хвилі падаючого світла, в розсіяному світлі виявлено більші і менші частоти, які й

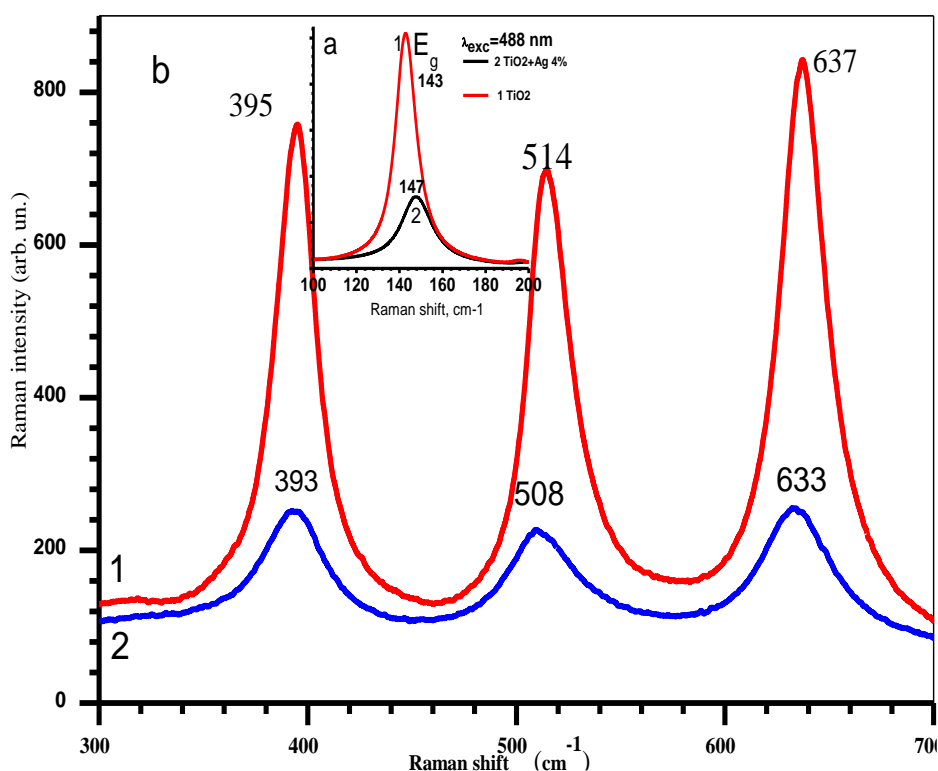
становлять спектр комбінаційного розсіювання. Через те, що спектри комбінаційного розсіювання дуже чутливі до природи хімічних зв'язків, кожна певна речовина, кожен матеріал має свій власний, індивідуальний спектр комбінаційного розсіювання.

Комбінаційне розсіювання світла (КРС) є інформативним методом для вивчення фундаментальних властивостей напівпровідникових сполук (розупорядкування кристалічної структури, дефектів, кристалічної орієнтації й фазового складу). На рис. 4.9 показано спектри комбінаційного розсіювання світла нано-TiO₂ та нанокompозиту TiO₂ зі сріблом.

З рисунка 4.9 видно, що форма смуг TiO₂ і нанокompозиту подібні між собою. У спектрі КРС чистого порошку TiO₂ спостерігались смуги, які відповідають розсіянню на фонах (коливання кристалічної ґратки) структурної фази анатазу TiO₂: E_{g(1)} (~ 143 см⁻¹), E_{g(2)} (~ 196 см⁻¹), 514 см⁻¹ (A_{1g}, B_{1g}) та E_{g(3)} (~ 637 см⁻¹) [118]. Як відомо, кристалічна структура анатазу відноситься до тетрагональної просторової групи (I4/amd) з чотирма формульними одиницями в примітивній комірці та має шість фундаментальних активних Раманівських мод коливань в спектрі: 3E_g+2B_{1g}+A_{1g} [119]. Симетричне валентне коливання комплексу O-Ti-O приводить до появи двічі виродженої фононної моди E_g. Моди B_{1g} й A_{1g} обумовлені симетричними невиродженими та антисиметричними коливаннями можливого комплексу O-Ti-O, відповідно [120].

В спектрі КРС вихідного нанопорошку TiO₂ і нанокompозиту відсутні помітні смуги, пов'язані з фазою брукіт або рутил, що підтверджує знаходження нанокристалітів в одній фазі анатазу (узгодження з ІЧ-аналізом й РФА [8-9]). Модифікування TiO₂ атомами срібла 4% призводить до зменшення інтенсивності всіх коливних смуг. Смуга моди E_{g(1)} для зразку TiO₂-Ag (вставка рис.4.9а) зміщується у високочастотний бік з 143 до 147 см⁻¹; інтенсивність піків для TiO₂ зменшуються з розширенням й низькочастотним зсувом, особливо 514→508 см⁻¹ (рис. 4.9. крива 2 рис. 4.9 б).

Оскільки існує різниця зарядів між іонами ($1,26\text{\AA}$) Ag^+ і ($0,64\text{\AA}$) Ti^{4+} , то легування сріблом для підтримання нейтральності заряду створює можливі кисневі вакансії в ґратці TiO_2 , а також поверхневі гідроксильні групи на поверхні металооксиду. У випадку, коли при легуванні іон срібла заміщує іон Ti^{4+} , зв'язки комплексу Ti-O-Ti можуть спотворюватися з утворенням нових зв'язків комплексів Ag-O-Ti або Ag-O-Ag . Отже, порушення зв'язків Ti-O-Ti і утворення нових зв'язків Ag-O впливає на комбінаційно-активні моди і призводить до розширення і зміщення смуг КРС в $\text{TiO}_2\text{-Ag}$. Схожий зсув мод анатазу у нанокompозиті діоксиду титану з 2 й 4% Ag спостерігався синтезованого з ізопропоксиду титану [121].



1 – nano- TiO_2 ; 2 – nano- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$

Рис. 4.9. Спектри комбінаційного розсіювання нанопорошків TiO_2

З метою дослідження розміру агломератів проводили диспергування зразків порошоків в стабілізуючому середовищі різної природи (рис. 4.10-4.11). Максимальне зменшення агломератів відбувається для зразка нанокompозиту TiO_2 зі сріблом, особливо в суміші цитрату з глюкозою, що сприяє зменшенню розміру агломератів наночастинок TiO_2 (рис. 4.10). Стабілізація суспензії

нанопорошків глюкозо-цитратним буфером (4 г глюкози, 1 г цитрату натрію, 100 мл дистильованої води), сприяла значному зменшенню агломерованих комплексів від розмірів агломератів 300-500 нм до 40-50 нм.

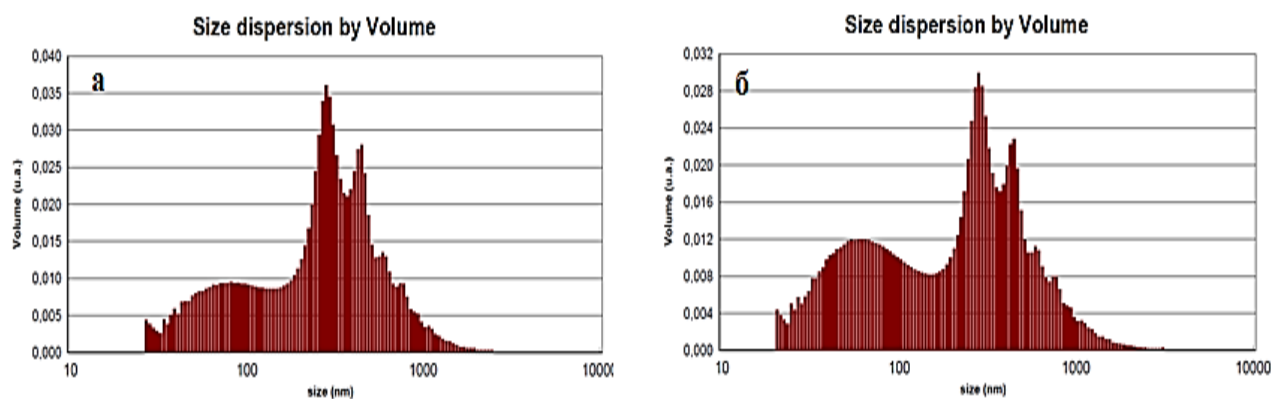


Рис. 4.10. Розподіл агломератів за розмірами для нанопорошку TiO_2 в середовищі: а) цитрат з глюкозою $D_{\text{mean}}=325,53$ нм; б) цитрат $D_{\text{mean}}=288,92$ нм

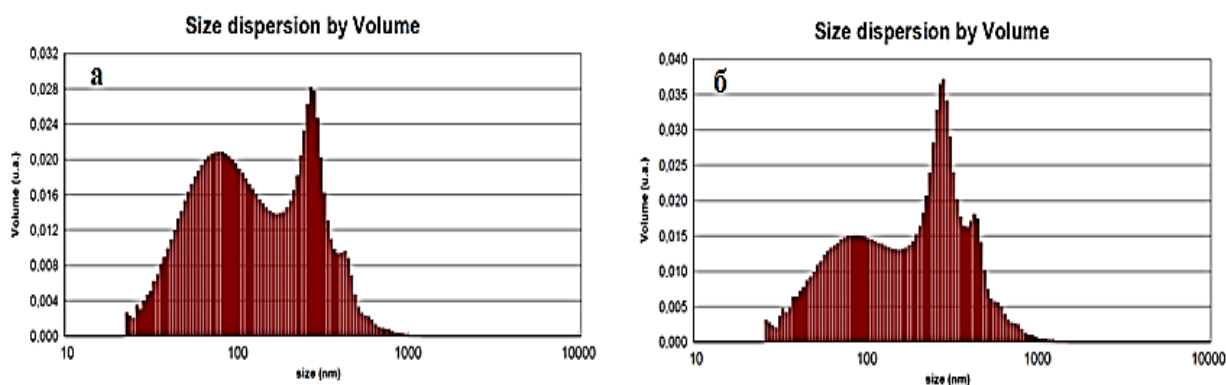


Рис. 4.11. Розподіл агломератів за розмірами для нанопорошку $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ в середовищі : а) цитрат з глюкозою $D_{\text{mean}}=166,76$ нм; б) цитрат $D_{\text{mean}}=223,30$ нм

Таким чином, електронною мікроскопією встановлено, що наночастинки Ag мають середній розмір дисперсної фази Ag 35-40 нм, а TiO_2 – 13-20 нм у композитному матеріалі. Частинки наносрібла локалізовані на поверхні нанодіоксиду титану. Нанопорошки TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ мають розвинену поверхневу структуру з мезопорами. Лазерною гранулометриєю показано, що в глюкозо-цитратному буфері ультразвуковим диспергуванням вдається значно зменшити розмір агломератів у нанопорошків TiO_2 та $\text{TiO}_2\text{-Ag}$.

Спектральним аналізом (РФА, ІЧС, КРС) підтверджено чистоту модифікації анатазу нанопорошків TiO_2 та $\text{TiO}_2\text{-Ag}$. Дефекти (вакансії кисню, надлишкові електрони й дірки, поверхневі гідроксильні групи), виявлені на поверхні синтезованого нано- TiO_2 , можуть виступати як активні центри, що дають можливість модифікувати наночастинками бактерицидного металу (Ag) для поліпшення антимікробних, фотокаталітичних й біосумісних властивостей.

Спектральний аналіз доводить фізико-хімічну взаємодію між Ag та напівпровідником TiO_2 , в результаті якої частинки наносрібла локалізуються на поверхні металооксиду. Зазначене свідчить про те, що паралельно з дослідженнями фізико-хімічних характеристик необхідно здійснювати їх токсикологічну оцінку можливого шкідливого впливу на людину та об'єкти біосфери.

Публікації за матеріалами розділу 4 [93, 107, 108, 122-125].

РОЗДІЛ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НАНОПОРОШКІВ ДІОКСИДУ ТИТАНУ ТА КОМПОЗИТУ НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ З НАНОСРІБЛОМ

5.1. Встановлення параметрів гострої токсичності та вивчення характеру дії на шкіру і слизову ока нанопорошків діоксиду титану та композиту діоксиду титану з наносріблом

Вивчення токсичності нанопорошків діоксиду титану (нано-TiO₂) та композиту діоксиду титану з наносріблом (нано-TiO₂-Ag) проводилось в гострих експериментах на чотирьох видах лабораторних тваринах: мишах, щурах, морських свинок і кролях. В гострих експериментах на мишах і щурах вивчали вплив високих доз нанопорошків TiO₂ і TiO₂-Ag з метою встановлення рівня летальності і розрахунку середньосмертельних доз та описання клініки можливого гострого отруєння. Також, вивчали гострий вплив нано-TiO₂ і нано-TiO₂-Ag на шкіру і слизову оболонку ока на морських свинках і кролях з метою оцінки їх резорбтивної, місцевої подразнюючої та сенсibiliзуючої дії.

З врахування мети дослідження і даних літератури щодо токсичності діоксиду титану і срібла у наноформі нами був визначений діапазон випробовуваних доз нано-TiO₂ і нано-TiO₂-Ag для гострих експериментів.

Для попередньої оцінки гострої токсичності був проведений експеримент методом однієї точки на мишах, яким внутрішньоочеревинно вводилась суспензія нанопорошку TiO₂ у фізіологічному розчині (0,9 % NaCl) в дозах 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 5000 мг/кг, 10000 мг/кг. Після введення суспензії нано-TiO₂ через 30 хвилин спостерігали клініку отруєння, що проявлялась зниженням рухової активності і загальмованістю експериментальних мишей. Через годину групи мишей, яким вводили дози 500 мг/кг і 1000 мг/кг нано-TiO₂, не відрізнялись своєю поведінкою і зовнішнім виглядом від контрольної групи. Миші, яким вводили дози 5000 мг/кг та 10000 мг/кг нано-TiO₂, продовжували

залишатися пасивними і пригніченими, також у них спостерігалася втрата інтересу до їжі та води, слабка реакція на зовнішні подразники. Через одну добу тварини, яким ввели дозу 10000 мг/кг нано-TiO₂, загинули. Тварини з введеною дозою 5000 мг/кг нано-TiO₂ залишалися живими, але перебували у стані інтоксикації. Вони характеризувались меншою руховою активністю, меншим інтересом до їжі, води, тьмяним шерстяним покривом порівняно з групою контролю. Далі їхній стан покращувався і після п'ятої доби спостереження група мишей, яким вводилось 5000 мг/кг нано-TiO₂, не відрізнялася від контролю.

Для виявлення особливостей гострої токсичної дії нанопорошків TiO₂ і TiO₂-Ag на іншому виді тварин був проведений експеримент на нелінійних білих лабораторних щурах. Статевозрілим самцям щурів внутрішньоочеревинно одноразово вводили суспензію нанопорошків у дозах нано-TiO₂: 1000, 3000, 5000, 7000, 9000, 11000, 13000 мг/кг і нано-TiO₂-Ag: 1000, 5000, 9000 мг/кг. Після введення досліджуваних наноматеріалів у відповідних дозах експериментальним щурам протягом першої доби спостерігалися загальні прояви інтоксикації, порушення координації, короточасні прояви пригніченості або гіперактивності. Надалі стан тварин покращувався і відновлювався. Однак спостерігались ознаки загальної інтоксикації у щурів з введеною дозою від 9000 мг/кг і вище нано-TiO₂ та від 5000 мг/кг і вище нано-TiO₂-Ag, що також відображається в результатах загального аналізу крові, де виявлено зменшення чисельності еритроцитів і тромбоцитів зі зростанням дози впливу наночастинок. Протягом двох тижнів спостереження летальних випадків серед експериментальних щурів не було зафіксовано. На відміну від мишей при внутрішньоочеревинному введенні щурам дози досліджуваних нанопорошків від 1000 мг/кг до 13000 мг/кг не викликали випадків загибелі тварин, однак призводили до ознак загальної інтоксикації (пригніченість, відмова від корму), а також до зниження вмісту еритроцитів та тромбоцитів в периферичній крові піддослідних тварин.

Далі досліджувалась гостра токсичність на мишах (n=6) шляхом внутрішньоочеревинного введення нано-TiO₂ і нано-TiO₂-Ag у дозах 4000, 7000 і 10000 мг/кг з метою встановлення LD₅₀. Відразу після введення високих доз

наноматеріалів у більшості мишей спостерігали рефлекторний прояв збудження і активної рухової поведінки, що протягом 20-40 хвилин змінювався зниженням рухової поведінки і загальмованості. Групи мишей, яким вводили 7000 мг/кг нано-TiO₂-Ag, 10000 мг/кг нано-TiO₂-Ag, 10000 мг/кг нано-TiO₂ і частина мишей груп, яким вводили 7000 мг/кг нано-TiO₂ і 4000 мг/кг нано-TiO₂-Ag продовжували залишатися пасивними, пригніченими, втрачали інтерес до їжі та води тобто спостерігалась симптоматика загальної інтоксикації, що завершилось летальними випадками у перші 24 години. Через добу група мишей, яким вводили 4000 мг/кг нано-TiO₂ і частина мишей з груп, яким вводили 7000 мг/кг TiO₂ і 4000 мг/кг нано-TiO₂-Ag своєю поведінкою не відрізнялась від контрольної групи. Також була випробувана доза 1000 мг/кг нано-TiO₂-Ag на мишах (n=6), що проявлялась клінічною симптоматикою загальної токсичності у 4 мишей, які в подальшому загинули (таблиця 5.1). Розтин (аутопсія) не дав можливості встановити причини летальності, візуально не спостерігалось патологічних макроскопічних змін внутрішніх органів, пов'язаних із досліджуваними нанопорошками.

Також досліджувалась гостра токсичність на мишах (n=6) шляхом внутрішньоочеревинного введення нано-TiO₂ у дозах 3000, 5000, 7000, 9000, 11000 мг/кг з метою встановлення LD₅₀. За період спостереження для нано-TiO₂ було виявлено, що при дозах 3000 мг/кг – летальність 0% (0 із 6), 5000 мг/кг – летальність 50% (3 із 3), доза 7000 мг/кг – летальність 66,6% (4 із 6), 9000 мг/кг – летальність 100%, 11000 мг/кг – летальність 83,3% (5 із 6) (таблиця 5.1). На основі отриманих даних летальності, розрахували пробіт аналізом середньосмертельні дози для нано-TiO₂ LD₅₀=4783,30 мг/кг.

Підсумувавши отримані дані летальності у експериментах гострої токсичності нано-TiO₂-Ag в дозах 1000, 4000, 7000, 10000 мг/кг, можна розрахувати LD₅₀. За період спостереження, було виявлено, що при дозі 1000 мг/кг – летальність 66,6% (4 із 6), дозі 4000 мг/кг – летальність 83% (5 із 6), дозах 7000 і 10000 мг/кг – летальність 100% (6 із 6) (таблиця 5.1). Отримані дані

летальності дозволили розрахувати методом пробіт-аналізу середньосмертельні дози для нано-TiO₂-Ag LD₅₀ яка становить 724,44 мг/кг.

Таблиця. 5.1. Летальність мишей після гострого впливу високих доз наночастинок TiO₂ і TiO₂-Ag, %, n=6

Групи тварин	Доза, мг/кг	Кількість загиблих тварин / Летальність %			
		1 доба спостереження		14 доба спостереження	
Контроль (n=6)	0	0	0%	0	0%
Нано-TiO ₂ (n=6)	3000	0	0%	0	0%
	4000	0	0%	0	0%
	5000	0	0%	3	50%
	7000	0	0%	2	33%
	7000	0	0%	3	50%
	9000	0	0%	6	100%
	10000	5	83%	6	100%
	11000	2	33%	5	83%
Нано-TiO ₂ -Ag (n=6)	1000	3	50%	4	67%
	4000	5	83%	5	83%
	7000	6	100%	6	100%
	10000	6	100%	6	100%

Встановлені середньосмертельні дози для нано-TiO₂ на рівні 4783,30 мг/кг та для нано-TiO₂-Ag – 724,44 мг/кг. За класифікацією Сидорова К.К. токсичності речовин при введенні внутрішньоочеревинно тваринам нано-TiO₂ відповідає класу VI (відносно нешкідливі), а нано-TiO₂-Ag – класу IV (мало токсичні).

Використовуючи рівняння для перерахунку LD₅₀ з внутрішньоочеревинного введення на внутрішньошлункове за монографією (Заугольнікова С.Д. та інші, 1978), визначили LD₅₀ внутрішньошлунково для нано-TiO₂ і для нано-TiO₂-Ag [126].

$$LD_{50} \text{ внутрішньоочеревинно} = 0,32 \cdot LD_{50} \text{ внутрішньошлунково}$$

LD_{50} внутрішньошлунково = LD_{50} внутрішньоочеревинно / 0,32

Для нано- TiO_2 :

LD_{50} внутрішньошлунково (нано- TiO_2) = 4783,30 / 0,32

LD_{50} внутрішньошлунково (нано- TiO_2) = 14947,81

Для нано- TiO_2 -Ag:

LD_{50} внутрішньошлунково (нано- TiO_2 -Ag) = 724,44 / 0,32

LD_{50} внутрішньошлунково (нано- TiO_2 -Ag) = 2263,87

За визначеними середньосмертельними дозами нано- TiO_2 відповідає 4-го класу (малонебезпечні) небезпечності хімічних речовин, а нано- TiO_2 -Ag відноситься до 3-го класу (помірно небезпечні) за класифікацією наведеною в наказі МОЗ України № 1596 від 14.07.2020 року «Гігієнічні регламенти хімічних речовин у повітрі робочої зони».

Місцева подразнююча дія нанопорошку TiO_2 на шкіру визначалась одноразовою аплікацією його у вигляді приготовленої вазелінової мазі (1:1) на шкіру внутрішньої поверхні вушної раковини кролів. Подразнююча дія нанопорошку діоксиду титану на слизову оболонку ока визначалась шляхом одноразового внесення його суспензії в кон'юнктивальний мішок слизової ока кролів. Після експозиції нанопорошку TiO_2 спостерігали за реакцією шкіри і слизової ока тварин протягом 14 діб. З боку слизової ока і шкіри змін виявлено не було.

Визначення місцево подразнюючого впливу і резорбтивного ефекту нано- TiO_2 і нано- TiO_2 -Ag на шкіру здійснювалась шляхом аплікації нанопорошку у вазеліні на попередньо депільовану ділянку шкірного покриву морських свинок. Реакцію стану шкіри оцінювали через 1 та 24 години. Проведене дослідження дозволило встановити відсутність ознак прояву (можливої гіперемії, еритеми, набряку шкіри тощо) місцево-подразнюючої дії нанопорошків на шкіру і загальний стан морських свинок. Місцево-подразнююча дія і резорбтивний ефект на шкіру морських свинок для нано- TiO_2 та нанокompозиту TiO_2 з Ag не виявлена.

Подразнююча дія нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на слизову оболонку ока визначалась також шляхом одноразового внесення їх в нативному стані в дозі 10 мг в кон'юнктивальний мішок слизової ока кролів. Нанопорошки TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ в нативному стані в дозі 10 мг виявляють слабо подразнюючу дію від 1 до 3 балів на слизову оболонку ока кролика.

Сенсибілізацію морських свинок проводили трьохразовим з інтервалом 10-14 днів внутрішньошкірним введенням суспензії нанопорошків в дозі ≈ 200 мкг у фізіологічному розчині з наступним виявленням змін шкіри за провокаційними тестами (2 групи експериментальні на кожен нанопорошок по 4 морські свинки та контроль). Дослідження сенсибілізуючої дії нанопорошків показало, що у близько половини морських свинок експериментальних груп виявлено позитивний провокаційний тест набряку шкіри вушної раковини після сенсибілізації нано- TiO_2 – 1 бал (0,03-0,07 мм), після сенсибілізації композитом нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – 2 бала (0,08-0,12 мм). Вимірювання товщини шкіри вушної раковини проводили мікрометром до введення наночастинок та через 24 години. Внутрішньошкірним введенням суспензій нанопорошків в дозі 200 мкг у вухо морської свинки встановлено, що нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ можуть спричиняти слабо виражену сенсибілізаційну дію.

Кумулятивну дію нано- TiO_2 вивчали за методом Lim et al. Дослідній групі щурів внутрішньошлунково вводився нанодіоксид титану за методикою Lim, починаючи з $1/10 \text{ LD}_{50}$ з підвищенням дози у 1,5 рази на кожний п'ятий день протягом 28 діб з отриманням сумарної дози 76040 мг/кг. Летальність у щурів не спостерігалась, що вказує на низькі кумулятивні властивості. Але у дослідній групі щурів спостерігалась зниження набору ваги у порівнянні з контрольною групою.

Таким чином, у гострих експериментах на лабораторних мишах нами був випробуваний діапазон доз досліджуваних наночастинок від 1000 мг/кг до 11000 мг/кг шляхом внутрішньоочеревинного їх введення. Встановлені середньосмертельні дози для нано- TiO_2 на рівні 4783,30 мг/кг та для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – 724,44 мг/кг. За класифікацією Сидорова К.К. токсичності речовин при

введені внутрішньоочеревинно тваринам нано- TiO_2 відповідає класу VI (відносно нешкідливі), а нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – класу IV (мало токсичні). За визначеними середньосмертельними дозами нано- TiO_2 відповідає 4-го класу (малонебезпечні) небезпечності хімічних речовин, а нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ відноситься до 3-го класу (помірно небезпечні). При дії високих доз досліджуваних сполук у деяких лабораторних тварин спостерігали симптоми гострого отруєння з проявом загальної інтоксикації, що проявлялось рефлексним збудженням на введення, загальмованістю, зниженням рухової активності, пригніченістю, зниженням і втратою інтересу до їжі та води, слабкою реакцією на зовнішні подразники, порушення координації, тьмяністю шерстяного покриву.

Введення в кон'юнктивальний мішок кролика нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ у нативному вигляді викликало слабе подразнення кон'юнктиви. При одноразовому і повторному нанесенні мазі нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на шкіру морських свинок не спостерігалось подразнення. Також встановлено відсутність у нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ шкірно-резорбтивної дії. Але на морських свинках виявлено, що нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ можуть спричиняти слабо виражену сенсibiliзаційну дію.

5.2. Вивчення особливостей розподілу титану і срібла у внутрішніх органах шурів та мишей, експонованих високими дозами наночастинок діоксиду титану та нанокompозиту діоксиду титану з сріблом

Одна із задач, яку ми ставили при плануванні токсикологічного дослідження полягала у вивченні розподілу і накопичення нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ в тканинах печінки, нирок, селезінки, серця, легень, мозку, тимусі та наднирників. Дослідження було проведене у двох серіях експериментів на двох видах лабораторних тварин з внутрішньоочеревинним введенням.

Перша серія експериментів мала орієнтовну пошукову мету. В ній кожній лабораторній тварині вводилась одна доза нанопорошку в наростаючому порядку. Дослідження було проведене на 13 лабораторних щурах. Першій групі,

яка включала 7 щурів, були введені дози 1000 мг/кг, 3000 мг/кг, 5000 мг/кг, 7000 мг/кг, 9000 мг/кг, 11000 мг/кг, 13000 мг/кг нано-TiO₂. Другій групі – 3 щурів був введений наноккомпозит TiO₂-Ag в дозах 1000 мг/кг, 5000 мг/кг, 9000 мг/кг. Третя група слугувала контролем. Вони спостерігалися впродовж двох тижнів.

Вміст хімічних елементів Ti та Ag у пробах визначали за допомогою методу оптико-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою (ОЕС-ІЗП) за допомогою приладу «Optima 2100 DV» (Perkin-Elmer, США) [103, 104].

На 14 добу спостереження щури були виведенні з експерименту із забором цільної крові та внутрішніх органів: печінки, нирок, селезінки, легень, наднирників, тимусу і мозку. Фрагменти внутрішніх органів експериментальних тварин відбирали загальноприйнятими методами. Метою першої серії експерименту була попередня токсикологічна оцінка нано-TiO₂ і нано-TiO₂-Ag для виявлення їх накопичення у внутрішніх органах щурів.

У більшості випадків на 14 добу після гострого введення різних доз нано-TiO₂ або нано-TiO₂-Ag дослідним щурам титан виявлявся в крові та внутрішніх органах. При цьому найбільша концентрація металу (Ti) у внутрішніх органах встановлена при дії найвищих випробуваних доз: група 13000 мг/кг нано-TiO₂ у цільній крові (0,053 мг/мл), тимусі (0,14 мкг/г), селезінці (0,094 мкг/г), нирках (0,047 мкг/г), наднирниках (0,034 мкг/г), мозку (0,007 мкг/г); група 5000 мг/кг нано-TiO₂ у цільній крові (0,023 мг/мл), селезінці (0,21 мкг/г), нирках (0,114 мкг/г), печінці (0,056 мкг/г), тимусі (0,046 мкг/г), легенях (0,029 мкг/г), наднирниках (0,003 мкг/г) та група 9000 мг/кг нано-TiO₂-Ag у цільній крові (0,008 мг/мл), тимусі (0,04 мкг/г), печінці (0,011 мкг/г), мозку (0,011 мкг/г), нирках (0,001 мкг/г). Найбільше титану виявлялося в цільній крові. Далі титановмісні наночастинки поширювалися через кров найбільше до нирок, селезінки, тимусу і печінки, хоча явної залежності від дози при введенні нано-TiO₂ чи нано-TiO₂-Ag не було виявлено. Слід звернути увагу на накопичення металу в імунному органі – тимусі та ендокринному – наднирниках, що потребує подальшого ретельного вивчення.

При дослідженні розподілу срібла у внутрішніх органах щурів за умови гострого впливу нано-TiO₂-Ag було виявлено на 14 добу найбільший вміст срібла у печінці (0,9 мкг/г), нирках (0,84 мкг/г), тимусі (0,69 мкг/г), легенях (0,03 мкг/г). Концентрація металу при цьому залежала від введеної дози. У селезінці визначити срібло не вдалося, що, можливо, пов'язано з недостатньою чутливістю метода вимірювання або швидким виведенням з цього кровоутримуючого органу. Вміст титану у тимусі, нирках щурів за умови гострого одноразового введення нано-TiO₂-Ag на 14 добу показав найбільше накопичення при дії дози 9000 мг/кг нано-TiO₂-Ag, особливо виражене у тимусі, нирках і печінці. У мозку дозозалежне накопичення титану і срібла не виявлено.

У другій серії досліджувалась гостра токсичність нано-TiO₂ та нано-TiO₂-Ag шляхом внутрішньоочеревинного введення статевозрілим самкам мишей BALB/c у дозах 4000, 7000, 10000 мг/кг (n=6). Досліджувані дози обох нанопорошків були обрані із врахуванням попередніх результатів власних досліджень. Контрольній групі тварин вводився фізіологічний розчин (0,9% NaCl), який був використаний як середовище для суспензії досліджуваних нанопорошків. Внутрішні органи мишей (печінка, нирки, селезінка, серце, легені, мозок) забирались на 14 добу спостереження або посмертно, якщо смерть наступила раніше.

У другій серії досліджень вивчали розподіл титану та срібла у внутрішніх органах мишей після гострого впливу досліджуваних наночастинок.

За визначеним вмістом титану у печінці мишей, виявлено, що найбільша досліджувана доза 10000 мг/кг нано-TiO₂-Ag статистично відрізняється від контролю та вказує на накопичення титану в цьому органі (табл. 5.2). За накопиченням срібла спостерігаємо статистичну різницю між контролем у всіх досліджуваних дозах наноконструкції (табл. 5.3). Щодо нано-TiO₂ виявлена статистична різниця тільки в найменшій досліджуваній дозі 4000 мг/кг, припускаємо, що цей феномен можна пов'язати з виживанням цієї групи до кінця експерименту і достатнім часом накопичення їх в цьому органі.

Таблиця 5.2. Вміст титану у внутрішніх органах мишей після гострого введення наночастинок TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$, медіана (95% ВІ), мкг/г, n=6

Введена доза, мг/кг		Вміст Ті в печінці	Вміст Ті в нирках	Вміст Ті в селезінці	Вміст Ті в серці	Вміст Ті в легенях	Вміст Ті в мозку
нано- TiO_2	4000	124,29* (11,54-275,92)	12,89 (10,56-15,94)	21,55 (10,0-30,56)	13,15 (2,5-24,75)	1,09 (1,02-1,99)	26,95* (10,22-64,5)
	7000	49,72 (19,09-263,19)	9,35 (3,33-41,3)	82,1 (53,49-110,7)	0,75 (0,56-80,21)	2,96 (0,66-27,76)	0,64 (0,2-3,05)
	10000	78,37 (18,17-121,67)	48,93* (7,54-60)	555,0* (49,34-2350,0)	80,34* (18,91-85,0)	50,86* (5,51-70,0)	15,86* (1,61-49,38)
нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$	4000	30,8 (4,6-137,8)	2,63 (0,6-48,25)	349,12 (16,93-1154,68)	2,54 (0,45-23,9)	2,55 (1,0-3,68)	0,94 (0,78-3,77)
	7000	42,77 (4,6-666,42)	35,25* (1,47-176,76)	860,49 (110,43-1023,16)	2,3 (0,45-19,76)	1,88 (0,67-47,68)	4,35 (1,19-89,08)
	10000	299,25* (7,72-449,72)	26,33* (25,0-30,2)	973,98* (416,7-1531,25)	81,75* (4,97-106,67)	11,56* (7,98-16,28)	10,33 (3,79-16,3)
Контроль		0,34 (0,3-0,42)	0,09 (0,06-0,09)	1,01 (0,83-1,1)	1,25 (0,15-0,23)	0,9 (0,5-1,0)	0,29 (0,2-4,0)

Примітка: * - $p < 0,05$ відмінність є статистично значимою порівнюючи з контролем

Статистично значимий вищий вміст титану відносно контролю виявлений у нирках при введенні найвищої дози 10000 мг/кг нано- TiO_2 та для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ у дозах 7000 мг/кг та 10000 мг/кг (табл. 5.2). Це вказує на більшу здатність нанокompозиту $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ до накопичення в нирках при введенні відносно менших доз у порівнянні з наночастинками TiO_2 . Додатковим підтвердженням цієї здатності є статистично вище виявлення срібла в нирках у найменших досліджуваних дозах 4000 мг/кг та 7000 мг/кг (табл. 5.3).

Таблиця 5.3 Вміст срібла у внутрішніх органах мишей після гострого введення наночастинок TiO₂-Ag, медіана (95% ВІ), мкг/г, n=6

Введена доза, мг/кг		Вміст Ag в печінці	Вміст Ag в нирках	Вміст Ag в селезінці	Вміст Ag в серці	Вміст Ag в легенях	Вміст Ag в мозку
нано-TiO ₂ -Ag	4000	2,53* (1,38-3,4)	4,92* (2,06-9,44)	9,93 (4,0-19,29)	4,87 (2,41-6,58)	4,96* (0,38-9,58)	0,88* (0,02-1,64)
	7000	2,75* (0,74-4,42)	3,67* (2,07-10,0)	20,0* (4,31-20,71)	2,98 (0,003-15,92)	3,08* (0,02-20,29)	0,54 (0,003-3,94)
	10000	1,75* (1,14-6,27)	0,49 (0,26-1,99)	14,08* (6,5-26,63)	0,31 (0,003-29,88)	0,009 (0,003-0,05)	0,007 (0,003-0,13)
Контроль		0,003 (0,003-0,003)	0,003 (0,003-0,003)	0,003 (0,003-0,003)	0,028 (0,003-0,06)	0,003 (0,003-0,008)	0,003 (0,003-0,007)

Примітка: * - p<0,05 відмінність є статистично значимою порівнюючи з контролем

В селезінці виявлено статистично значимий підвищений вміст титану для найвищої дози 10000 мг/кг для обох нанопорошків (табл. 5.2). Дані, наведені в табл. 5.3, свідчать про статистично значиме підвищення вмісту срібла при введенні в дозах, як 7000 мг/кг і 10000 мг/кг нано-TiO₂-Ag.

В легенях та серці виявлено статистично значимий підвищений вміст титану при введенні найвищої дози 10000 мг/кг для обох досліджуваних нанопорошків (табл. 5.2). Також статистично вищою виявили наявність срібла в легенях у найменшій досліджуваній дозі 4000 мг/кг та середній дозі 7000 мг/кг, що може вказувати на більшу схильність до накопичення наноконцентрату (табл. 5.3). В мозку виявлено статистично значимий підвищений вміст титану для найвищої досліджуваної дози 10000 мг/кг наночастинок TiO₂ (табл. 5.2).

Отже, вивчення накопичення титану та срібла у внутрішніх органах щурів та мишей свідчить, що навіть після одноразового введення високих концентрацій

металів у формі наночастинок на 14 добу спостережень їх вміст залишається високим, подекуди залежить від дози, найбільш чутливими органами до утримання металів є нирки, печінка, селезінка, тимус та наднирники. Отримані нами результати досліджень сходяться з даними, наведеними в науковій літературі [127-133]. Рядом авторів опубліковані дані, які свідчать, що тривалий вплив нано-TiO₂ здатний призводити до накопичення у внутрішніх органах, насамперед селезінці, печінці і нирках, чинити оксидативний стрес, впливати на клітинний імунітет, порушувати баланс макро- та мікроелементів (Cu, K, Zn) [127-132]. Апоптоз та запальна реакція є основним механізмом, що лежать в основі нейротоксичності цих частинок [128, 129]. Є свідчення що нано-TiO₂ можуть виступати в ролі ендокринних дизрапторів [130], спричиняти генотоксичну дію на нейроглию мозку. З огляду на те, що нано-TiO₂ широко використовуються у багатьох галузях промисловості, ризик впливу цих частинок збільшується; отже, їх потенційний вплив на організм людини слід досліджувати більш детально.

Так, відомо, що інгаляційне, перкутанне або пероральне надходження нано-TiO₂ призводить до накопичення їх у легенях, травному каналі, печінці та інших органах [134, 135].

В дослідженнях Geraets L. та співавторів вивчався розподіл титану (Ti) у внутрішніх органах щурів після внутрішньовенного введення наночастинок діоксиду титану, найбільше накопичення було виявлено в печінці, селезінці і легенях. Також було показано повільне виведення з тканин. При пероральному впливу наночастинок діоксиду титану продемонстровано незначна абсорбція через шлунково-кишковий тракт і виявленням титану в печінці, селезінці і мезентеріальних лімфатичних вузлах деяких щурів [134].

Таким чином встановлено, що за умов одноразового внутрішньоочеревинного введення наночастинок діоксиду титану та композиту наночастинок діоксиду титану зі сріблом відбувається накопичення металів у внутрішніх органах щурів та мишей. Незважаючи на той факт, що у ряді випадків не було виявлено дозової залежності вмісту титану та срібла у внутрішніх

органах щурів, однак показовим було накопичення у внутрішніх органах за найвищих доз нано-TiO₂ або нано-TiO₂-Ag (13000 або 9000 мг/кг відповідно), особливо у нирках та печінці. Особливим було і виявлення накопичення вмісту титану у тимусі та наднирниках, що може свідчити про токсичну дію наночастинок на імунну та ендокринну систему. Органами з найвищим накопиченням наночастинок TiO₂ та нанокompозиту TiO₂-Ag виявилися нирки, печінка, селезінка у мишей після одноразового внутрішньоочеревинного введення високих доз досліджуваних металовмісних наночастинок. Одержані нами дані свідчать про необхідність поглиблення і розширення досліджень з вивчення розподілу металовмісних наночастинок металів у внутрішніх органах лабораторних тварин для з'ясування особливостей та причин їх різної органотропної дії.

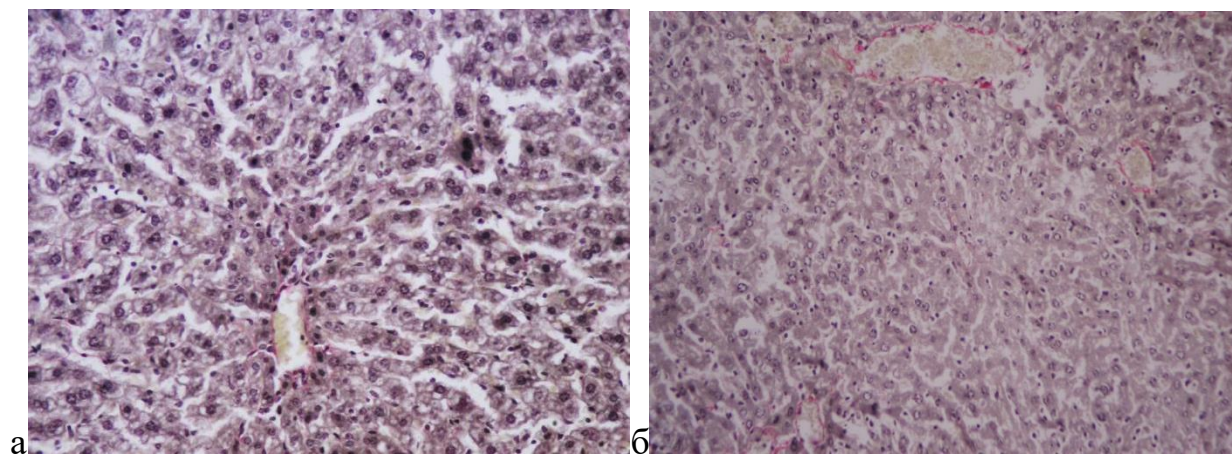
5.3. Морфологічні аспекти прояву гострої дії нанопорошків діоксиду титану та композиту діоксиду титану з сріблом у внутрішніх органах (печінка, легені, головний мозок, серце, нирки, селезінка) лабораторних мишей

Гістологічними методами було досліджено структурну організацію печінки, легень, головного мозку, серця, нирок, селезінки мишей після одноразового внутрішньоочеревинного введення нанопорошків TiO₂ і TiO₂-Ag у дозах 4000 мг/кг, 7000 мг/кг, 10000 мг/кг у порівнянні з контролем (інтактні тварини та після введення фізіологічного розчину).

Дослідження морфо-структурних змін тканини печінки після внутрішньоочеревинного введення нано-TiO₂ і нано-TiO₂-Ag. Введення фізіологічного розчину не позначилось на змінах морфології паренхіми печінки, тоді як нано-TiO₂ та нано-TiO₂-Ag викликало зміни печінки, які полягали у пошкодженні клітин печінки – гепатоцитів та клітин кровоносних судин (рис. 5.1).

При введенні нанопорошку TiO_2 в дозі 4000 мг/кг встановлено дистрофічні зміни гепатоцитів (набряк цитоплазми, вакуолізація), розширення синусаїдних гемокапілярів (рис. 5.1 а). У дозі 7000 мг/кг у зразках печінки виявлені агломерати чужорідного матеріалу (кристалічні включення), навіть у мишей, які загинули в кінці першої доби (рис. 5.1 б). Після введення нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ у дозі 4000 та 7000 мг/кг відмічено подібні структурні зміни. Домінували дистрофічні зміни гепатоцитів, виявлено клітини з ядрами у стані пікнозу (рис. 5.1 в-г). Після введення нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ у дозі 10000 мг/кг встановлені зміни в тканині печінки, були поліморфними: від структурних дистрофічних змін гепатоцитів до наявності фокальних некрозів у частках печінки (рис. 5.1 д-е).

Ознаки накопичення нано- TiO_2 у печінці мишей відмічено у дозі 7000 та 10000 мг/кг (кристалічні включення між гепатоцитами), а великі за обсягом скупчення були інкапсульовані сполучнотканинними елементами (рис. 5.2). Доказом наявності саме включень титану підтверджено методом енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії. Зазначені зміни були характерні для випадків виявлення чужорідних неорганічних включень на рівні капсули органу.



а Група 4000 мг/кг нано- TiO_2 Зб.×200

б Група 7000 мг/кг нано- TiO_2 Зб.×200

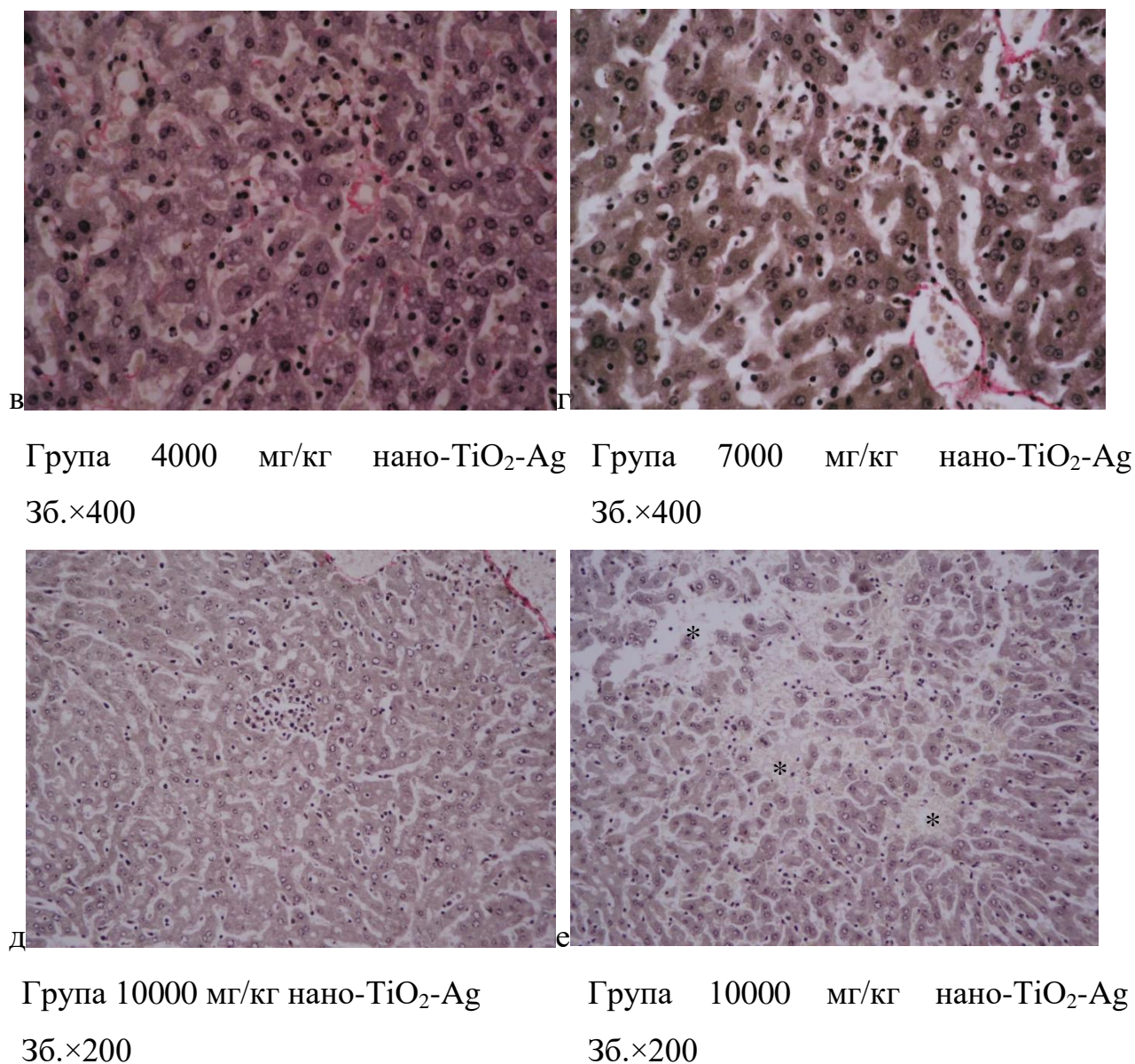


Рис. 5.1. Структурні зміни печінки мишей після одноразового внутрішньоочеревинного введення нано-TiO₂ та нано-TiO₂-Ag. Примітка: а-д – ушкодження паренхіми печінки, дистрофічні зміни гепатоцитів, розширення синусоїдних капілярів на 1 добу за введення трьох доз нанопорошків; е – фокальні некрози (*) паренхіми печінки на 1 добу при дозі 10000 мг/кг нано-TiO₂-Ag. Сіріус червоний, гематоксилін Вейгерта.

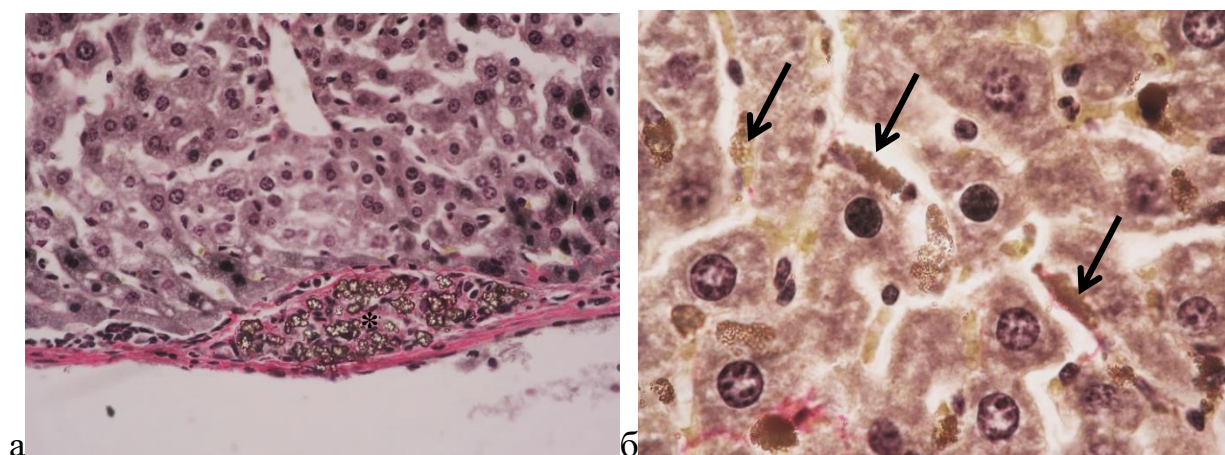


Рис. 5.2. Структурні зміни печінки на 14 добу одноразового внутрішньоочеревинного введення нано- TiO_2 у дозі 7000 мг/кг. Примітка: а – фібротичні зміни у субкапсулярній ділянці з включеннями нано- TiO_2 (*); б – кристалічні чужорідні включення (\leftarrow) між гепатоцитами. Сіріус червоний, гематоксилін Вейгерта. Зб. а: $\times 400$; б: $\times 1000$.

Головні зміни гепатоцитів (враховуючи посмертні зміни, аутолітичні процеси) проявлялись вакуолізацією цитоплазми (оптично порожня цитоплазма гепатоцитів), пікнозом ядер, збільшенням кількості двоядерних гепатоцитів. Набряк гепатоцитів, різка дилатація синусоїдних капілярів печінки, некроз клітин судин на 14 добу після введення нано- TiO_2 та нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ вказує на їх токсичну дію і порушення бар'єрної функції судин печінки та, як наслідок, ураження гепатоцитів. При дозі введення 4000 і 10000 мг/кг нано- TiO_2 на 14 добу експерименту мікроскопічно виявлено більшу від зразків контрольної групи кількість двоядерних гепатоцитів, що може вказувати на деякі адаптаційні та репаративні зміни у гепатоцитах.

При внутрішньоочеревинному введенні нано- TiO_2 та нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ відбулось розширення мікросудин паренхіми печінки: синусоїдні капіляри, центральної вени, портальної вени у тріадах. Судини тріад у портальних часточках були різко кровонаповнені, тоді як мікроциркуляція по синусоїдних капілярах відрізнялась, вона була неоднорідною. Загибель лабораторних мишей

після внутрішньоочеревинного введення нано-TiO₂-Ag могла бути спричинена токсичною дією на клітини кровоносних судин.

Зрідка виявляли фокальну запальну інфільтрацію (макрофаги, лімфоцити). На 14 добу макрофаги фагоцитували клітинний детрит. При цьому навіть у ділянках знаходження кристалічного чужорідного матеріалу не виникала запальна інфільтрація. Вірогідність розвитку запального процесу у відповідь на внутрішньоочеревинне введення нано-TiO₂ та нано-TiO₂-Ag була непереконливою. Можна припустити, що TiO₂ може взаємодіяти з білками і ферментами в інтерстиціальному просторі печінки, що приводить до генерації активних форм кисню, які, в свою чергу, можуть індукувати запальну відповідь. Але у цьому дослідженні явища некрозу були неспецифічними і домінували над ймовірністю виникнення запальної реакції.

Неоднорідність виявлення, очевидно, була пов'язана з дозою введення та характером розподілення нано-TiO₂ та нано-TiO₂-Ag в очеревині після внутрішньоочеревинного введення. Виявлено реакцію сполучної тканини на чужорідний матеріал, відбувалась інкапсуляція кристалічних включень, значний колагеногенез в осередках виявлення нано-TiO₂ та нано-TiO₂-Ag, особливо у ділянках капсули печінки. Дрібноосередкові кристали у паренхімі печінки, які спостерігалися при введенні нанопорошків в дозах 7000 і 10000 мг/кг, викликали фокальний некроз гепатоцитів. У випадках розвитку некрозів паренхіми органу архітектоніка структурно-функціональних одиниць печінки (часточки печінки) була суттєво зміненою.

Описані зміни печінки систематизовано представлено у таблиці 5.2. З них можна зробити загальний висновок, що найбільш характерними мікроскопічними ознаками токсичної дії нано-TiO₂ виявились дистрофічні зміни на рівні 67,7 % (цитоплазматична вакуолізація в гепатоцитах), а при впливі нано-TiO₂-Ag – початкові некротичні зміни на рівні 70 % (гепатоцити з пікнозом ядер). Варто відмітити, що токсична дія нано-TiO₂ і нано-TiO₂-Ag значно рідше проявлялась фокальними некрозами і запальними реакціями (фокальна

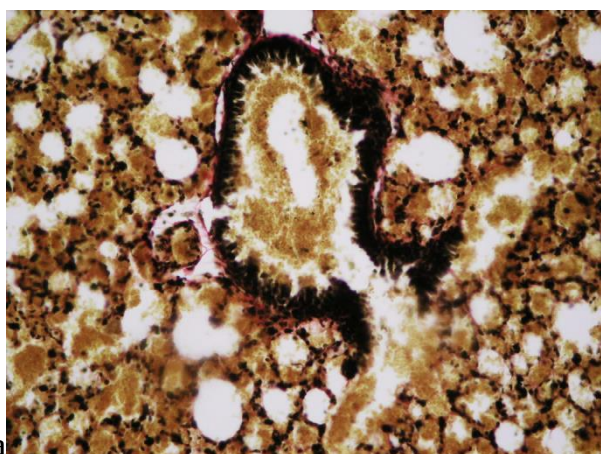
інфільтрація), в окремих випадках траплялись адаптаційні зміни, що проявлялись збільшенням кількості бінуклеарних гепатоцитів.

Таблиця 5.4. Мікроскопічні зміни печінки після внутрішньоочеревинного введення нано-TiO₂ та нано-TiO₂-Ag

Характер змін	Тип гістопатологічних змін	Відсоток (%) домінуючих змін від загальної кількості тварин у групі при впливі нано-TiO ₂ , n=12	Відсоток (%) домінуючих змін від загальної кількості тварин у групі при впливі нано-TiO ₂ -Ag, n=10
Дистрофічні	Цитоплазматична вакуолізація (гідропічна дистрофія) в гепатоцитах	66,7	60,0
Переднекротичні	Гепатоцити з пікнозом ядер	25,0	70,0
Некротичні	Фокальні некрози	8,3	30,0
Запальні	Фокальна інфільтрація запальних клітин	8,3	20,0
Адаптаційні	Збільшення кількості бінуклеарних гепатоцитів	8,3	40,0

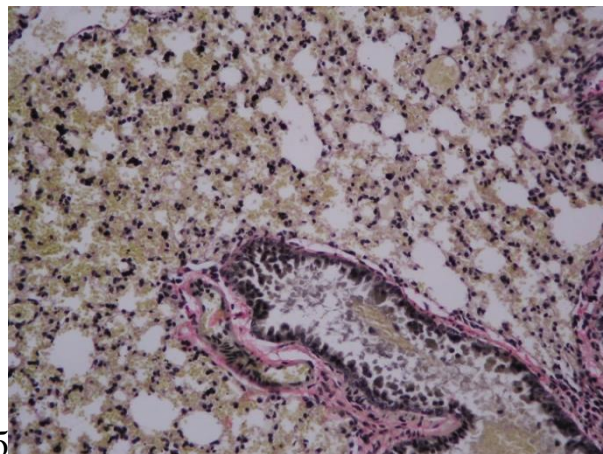
Дослідження морфо-структурних змін легень після внутрішньоочеревинного введення нано-TiO₂. При дослідженні гістологічної будови легень увагу було зосереджено на стані структурних елементів бронхіального дерева та альвелярних ацинусів. Відмічено загальні, спільні, і неспецифічні морфологічні ознаки ураження тканини легень після внутрішньоочеревинного введення нанопорошків (Рис. 5.3). Майже у всіх досліджених зразках виявлено ознаки геморагічного просочення респіраторного відділу різного рівня. Реєстрували як вогнищеві осередки крововиливів, так і

тотальне ураження тканини легень. Істотної залежності між досліджуваними групами на 1 добу експерименту не виявлено.



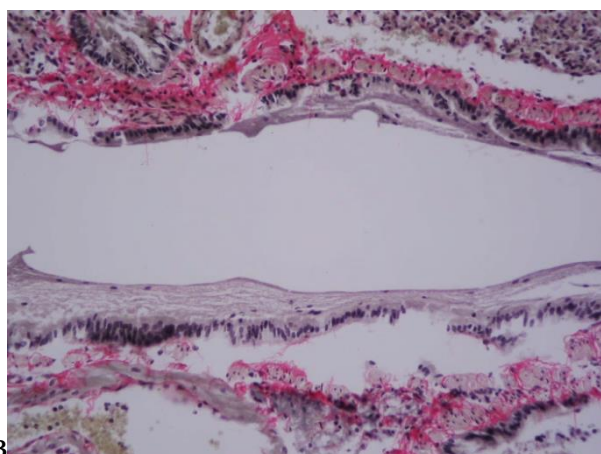
а

Група 4000 мг/кг нано- TiO_2 36. \times 200



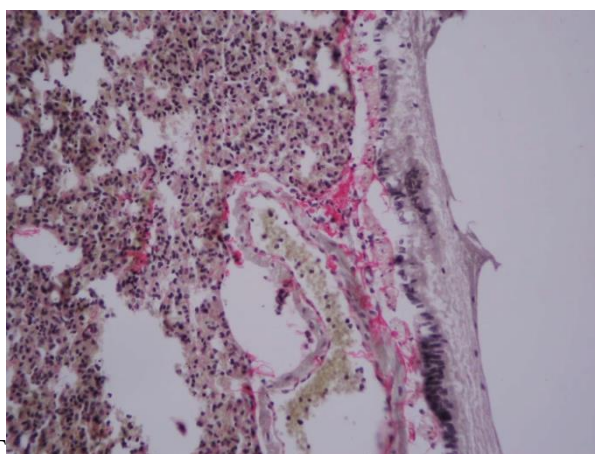
б

Група 7000 мг/кг нано- TiO_2 36. \times 200



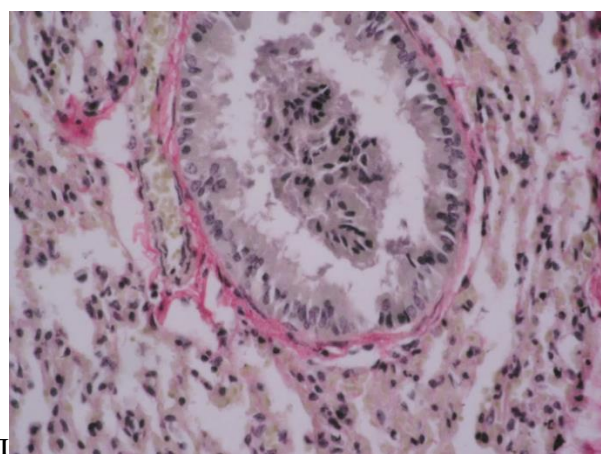
в

Група 10000 мг/кг нано- TiO_2 36. \times 200



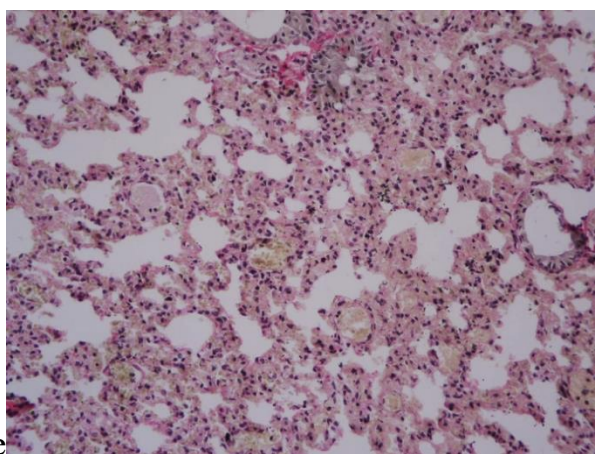
г

Група 10000 мг/кг нано- TiO_2 36. \times 200



д

Група 4000 мг/кг нано- TiO_2 -Ag 36. \times 400



е

Група 10000 мг/кг нано- TiO_2 -Ag 36. \times 200

Рис. 5.3. Структурні зміни легень мишей після одноразового внутрішньоочеревинного введення нано- TiO_2 та нано- TiO_2-Ag . Примітка: а,б,е – геморагічне просочення тканини легень; б,в,г,д – дистрофічні зміни і некроз епітелію слизової оболонки бронхів різного калібру. Сіріус червоний, гематоксилін Вейгерта.

Структурна цілісність великих судин (артерій та вен) залишалась збереженою. Ймовірно, ураження та відповідні структурні зміни зазнали саме мікросудини респіраторного відділу легень. Також у досліджених зразках виявлено ураження епітеліальної пластинки слизової оболонки бронхів. Характерним проявом цих змін були: некроз епітеліоцитів (рис. 5.3 б-д), десквамація епітелію, рідше ознаки гіперсекреції слизового секрету (рис. 5.3 в-г). У просвіті великих та середніх бронхів реєстрували клітинний детрит, секрет, епітеліоцити. Як правило, такі зміни були дифузними. При цьому ознак розвитку запальних змін у респіраторному відділі легень не виявлено. Описані структурні зміни були неспецифічними і мали місце у всіх досліджених групах.

Дослідження гістологічних особливостей будови головного мозку після внутрішньоочеревинного введення нано- TiO_2 . Головним мозок є складним морфологічним субстратом для оцінки токсичної дії сполук та морфофункціональних реакцій клітинних утворень мозку. Увагу було зосереджено на виявленні морфологічних змін, які могли б вказувати на гостре токсичне ураження, запалення тощо. У досліджених зразках головного мозку мишей на 1 та 14 добу після внутрішньоочеревинного введення нано- TiO_2 і нано- TiO_2-Ag ознак запальної інфільтрації або крововиливів не виявлено. Бічні шлуночки мозку не мали явних ознак розширення, а у їх просвітах виявлено судинні сплетення незміненої архітектоніки. Цитоархітектоніка кори мозку також не мали явних ознак порушень. Некрозів, крововиливів або ознак запальної реакції у підкіркових структурах, як таламічна ділянка (стріатум) не виявлено (рис. 5.4). За результатами гістологічних досліджень зроблено висновок про те, однократне внутрішньоочеревинне введення нанопорошків не позначилось на

загальноморфологічній організації головного мозку, як анатомічного утворення нервової тканини.

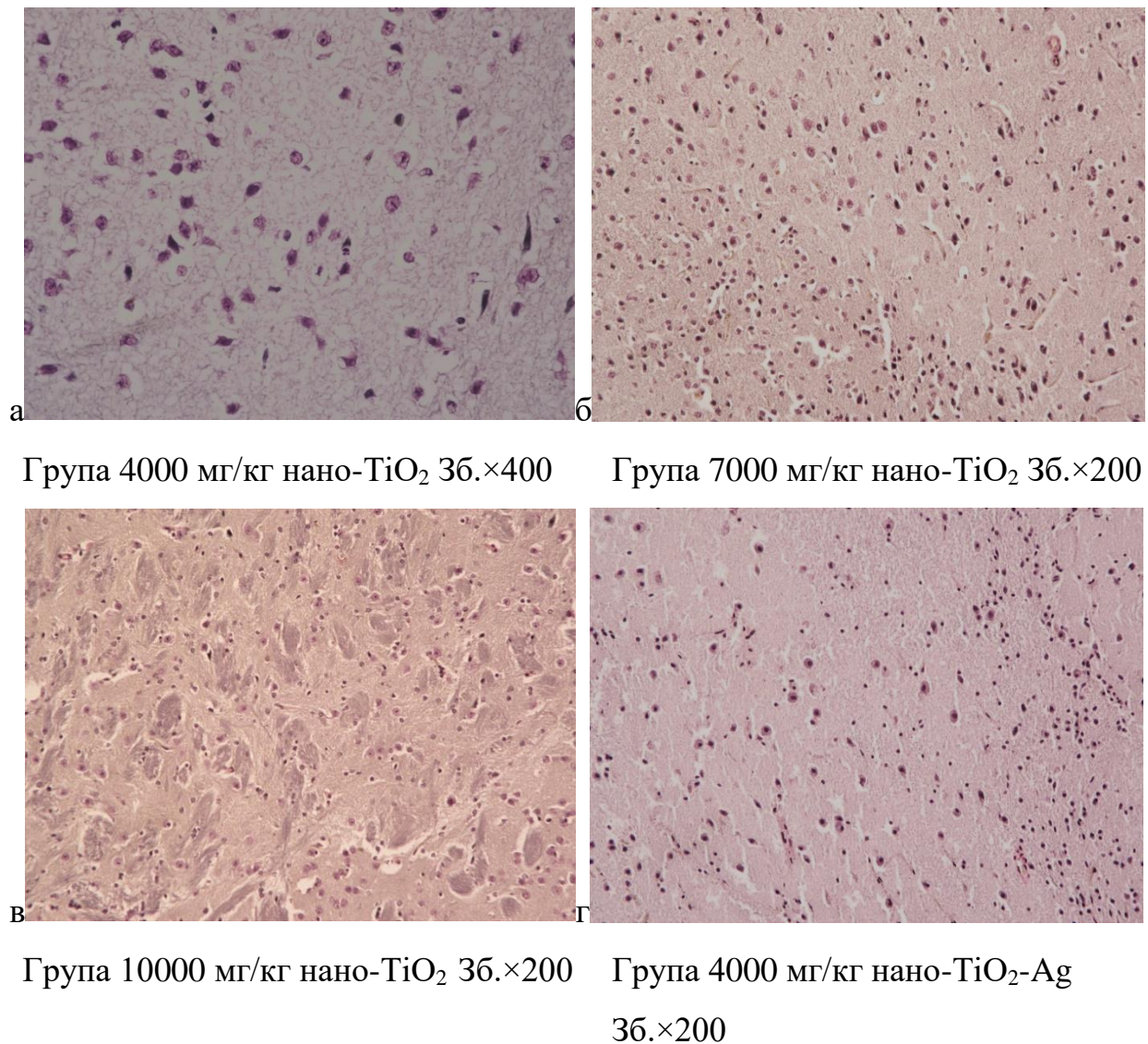
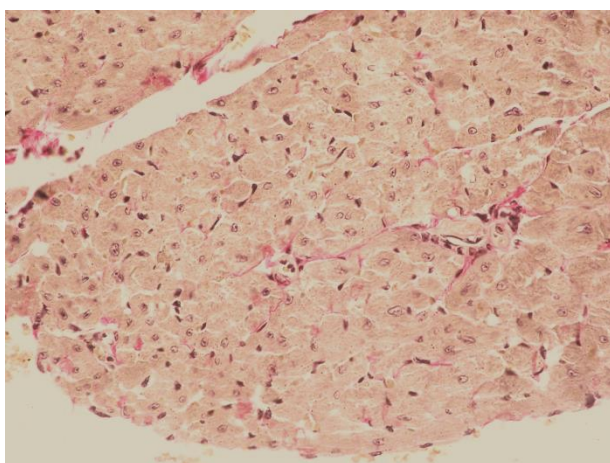


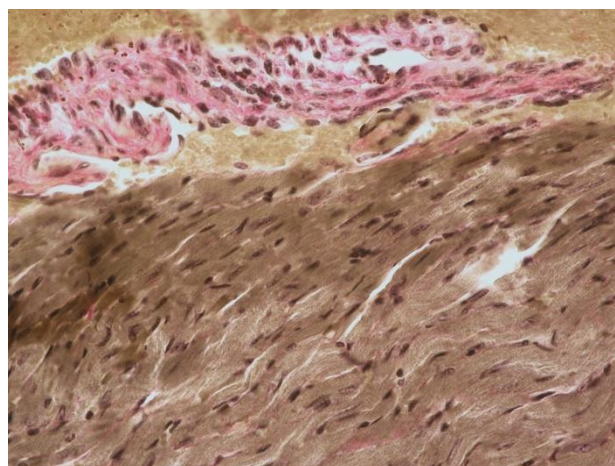
Рис. 5.4. Головний мозок мишей після одноразового внутрішньоочеревинного введення нано-TiO₂ та нано-TiO₂-Ag. Ділянки таламусу головного мозку без ознак структурних порушень. Сіріус червоний, гематоксилін Вейгерта.

Дослідження морфологічної організації серця мишей після внутрішньоочеревинного введення нано-TiO₂. Дослідження гістологічної будови серця тварин полягало у вивченні морфологічної організації компактного та трабекулярного шарів міокарду шлуночків та передсердь, клапанів серця. За

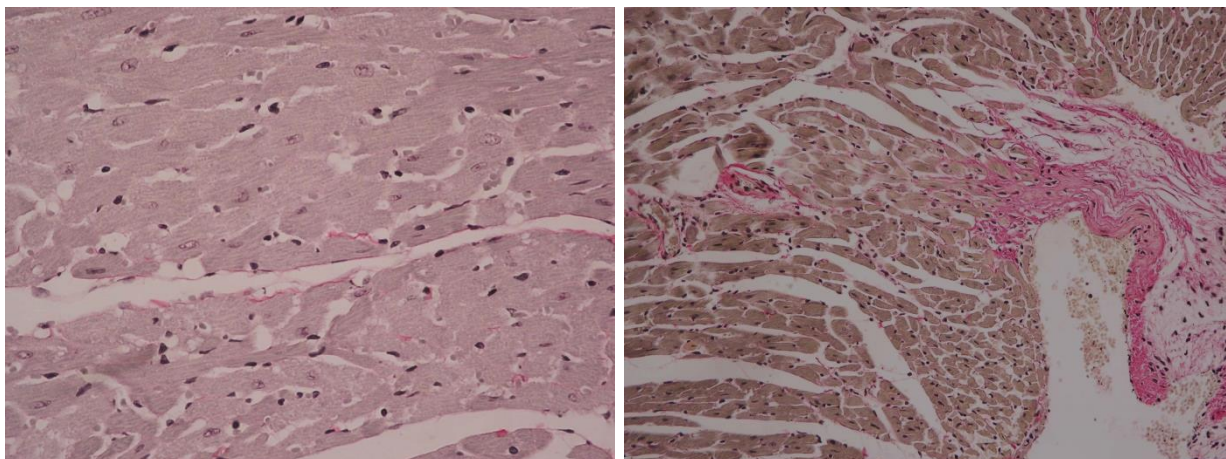
результатами аналізу зразків серця зроблено заключення, що загальноморфологічна організація серця тварин після введення внутрішньоочеревинного введення нанопорошків була збереженою, ознак некрозів у міокарді, запалення або геморагічного просочення стінки серця не виявлялось (Рис. 5.5). Міокард представлений волокнами, які побудовані з кардіоміоцитів. М'язові волокна щільно організовані у стінці серця. Між ними прослідковувалися тонкі колагенові волокна, краще і більша їх щільність виявлялась у міокарді передсердь. У кардіоміоцитах виявлено ядра, без явних ознак пікрозу або нуклеолізу. У цитоплазмі кардіоміоцитів реєстрували білкові елементи з поперечною посмугованістю. Досліджено структурні елементи клапанів серця. Останні організовані з елементів ендокарду (ендотеліальні клітини, колагенові волокна) та багатошарових колагенових смужок, а у стінці клапанів виявлено ядра ендотеліальних клітин. У компактному шарі міокарду також реєстрували поодинокі кровоносні судини, без ознак крововиливів або запальної реакції.



Група контроль $\times 400$



Група 10000 мг/кг нано- TiO_2 36 \times 400

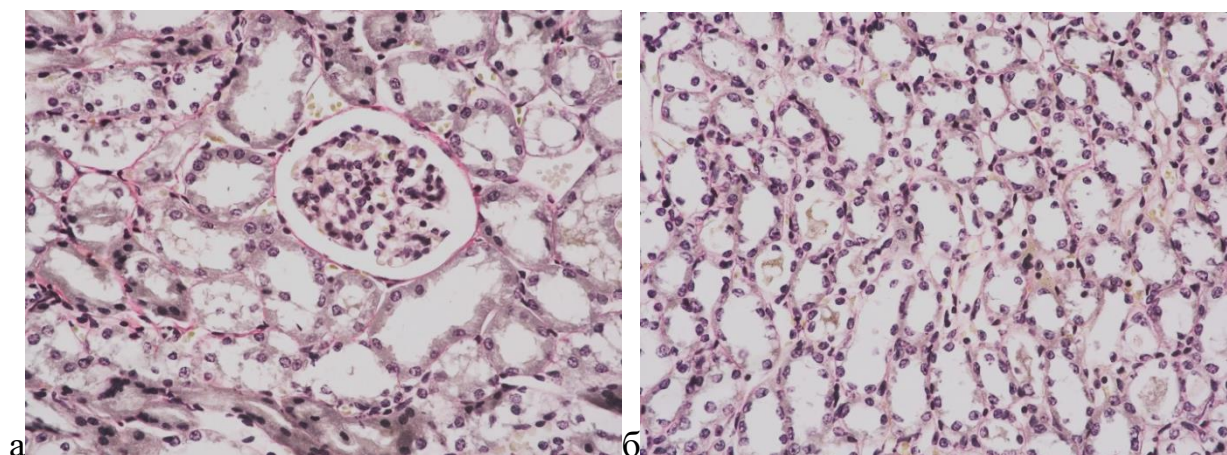


Група 4000 мг/кг нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$
36.×400

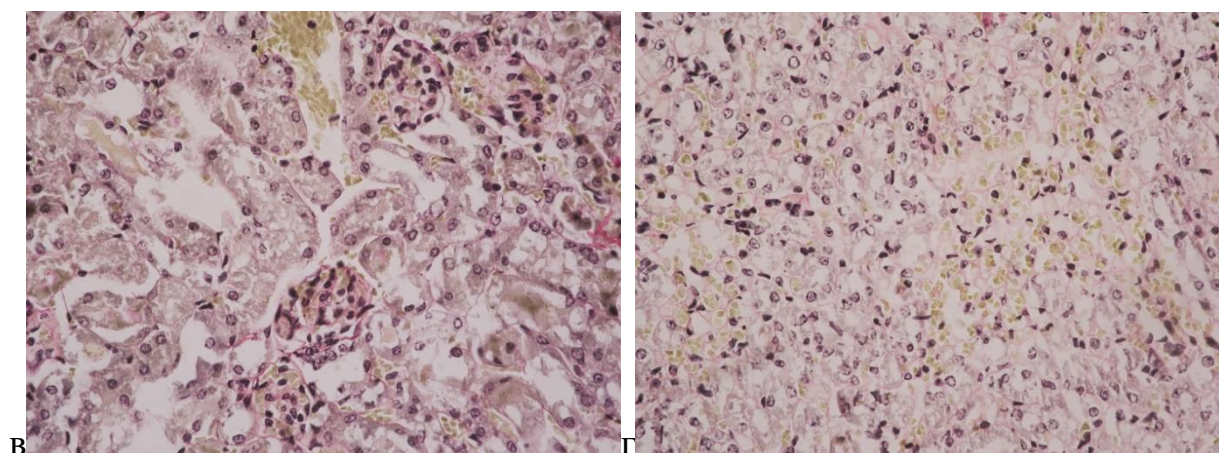
Група 7000 мг/кг нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$
36.×200

Рис. 5.5. Серце мишей після одноразового внутрішньоочеревинного введення нано- TiO_2 та нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$. Міокард без ознак структурних порушень. Сіріус червоний, гематоксилін Вейгерта.

Дослідження структурних змін нирки мишей після внутрішньоочеревинного введення нано- TiO_2 . При дослідженні особливостей морфологічної структури нирки мишей після внутрішньоочеревинного введення нанопорошків увага була зосереджена на змінах ниркових тілець, канальців у кірковій та мозковій речовині. На рисунку 5.6 і 5.7 представлено мікрофотографії змін нирки на кінець 1-ї доби експерименту. Структурними проявами токсичної дії нано- TiO_2 та нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ були збільшення сечового просвіту у ниркових тільцях, дистрофічні зміни епітелію канальців різного ступеня (від набряку епітелію до некрозу і руйнації канальців) (рис. 5.6 а, в; рис. 5.7 а, в).

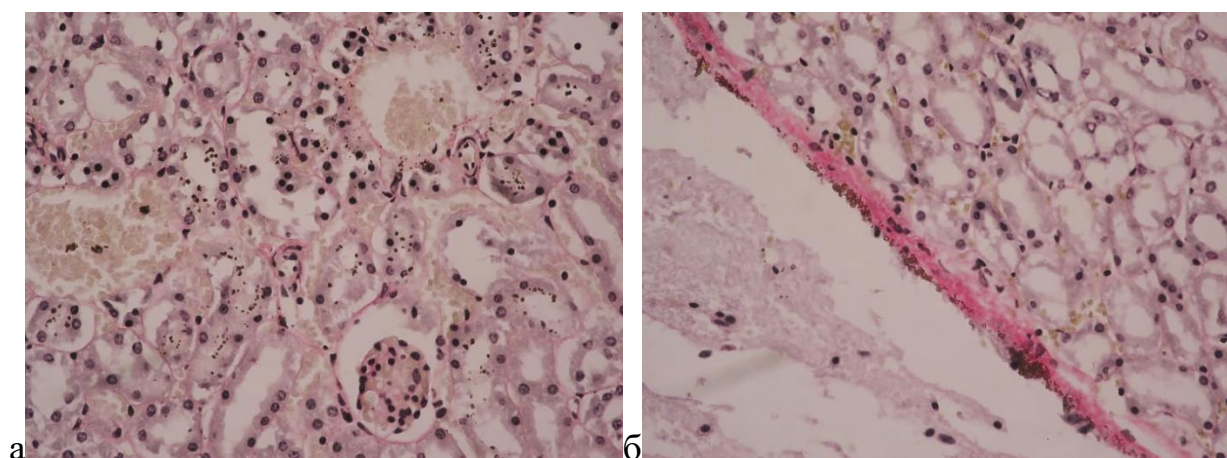


Група 7000 мг/кг нано- TiO_2 Зб. $\times 400$

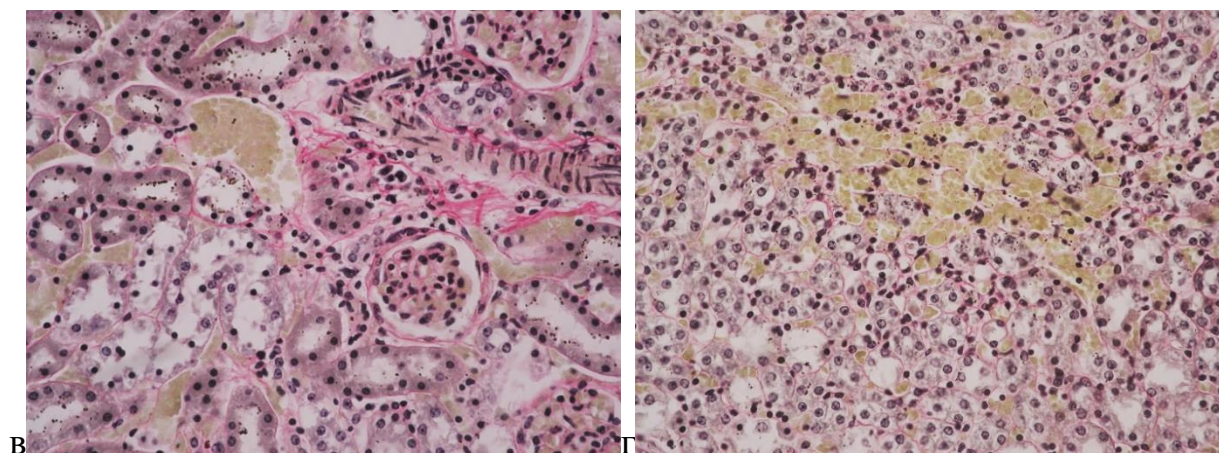


Група 10000 мг/кг нано- TiO_2 Зб. $\times 400$

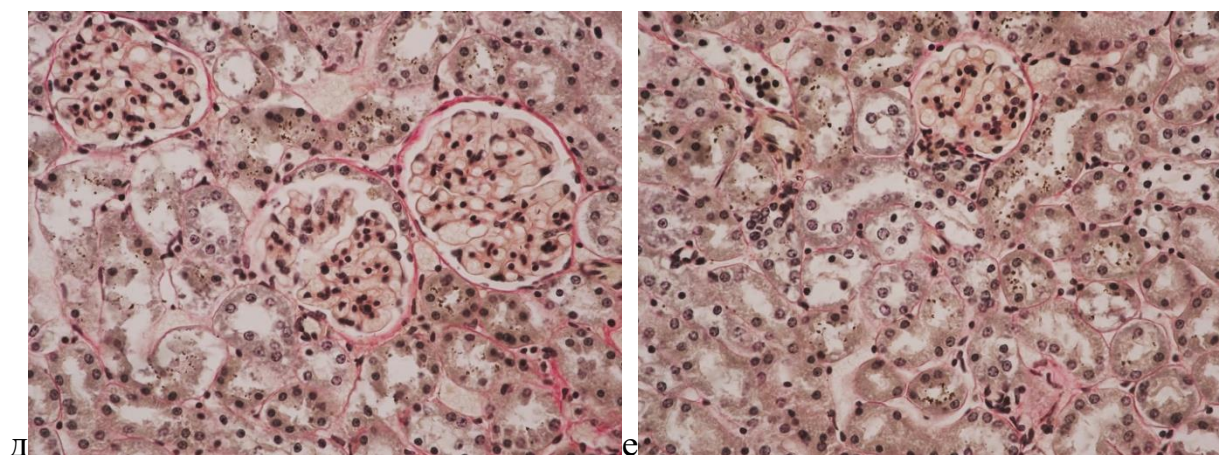
Рис. 5.6. Структурні зміни нирки мишей на 1 добу після одноразового внутрішньоочеревинного введення нано- TiO_2 . Примітка: а, в – кіркова речовина; б, г – мозкова речовина. Сіріус червоний, гематоксилін Вейгерта.



Група 4000 мг/кг нано- TiO_2 -Ag Зб. $\times 400$



Група 7000 мг/кг нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ Зб. \times 400



Група 10000 мг/кг нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ Зб. \times 400

Рис. 5.7. Структурні зміни нирки мишей на 1 добу після одноразового внутрішньоочеревинного введення нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$. Примітка: а, в, д, е – кіркова речовина; б, г – мозкова речовина. Сіріус червоний, гематоксилін Вейгерта.

Стінка ниркового тільця і судинний клубочок, як правило, були збереженими, у просвіті мікросудин виявлялись еритроцити. При дозі 4000 і 7000 мг/кг судинні клубочки не мали явних ознак некрозу і деструкції, тоді як при дозі 10000 мг/кг відмічено деформацію та зменшення розмірів клубочків у групі з нано- TiO_2 або, навпаки, різке розширення мікросудинної сітки та збільшення сечового просвіту у групі з нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ (рис. 5.7 д, е). Із збільшенням дози нанопорошків відмічено тенденцію до більшого ступеня ураження епітелію звивистих каналців у кірковій речовині та прямих каналців і збірних трубочках у мозковій речовині. При дозі 7000 та 10000 мг/кг встановлено істотне

порушення епітелію каналців у мозковій речовині, в окремих каналцях спостерігалась втрата епітеліальної стінки і локальне кровонаповнення мікросудин (Рис. 5.6 г, 5.7 г).

Після введення нано- TiO_2 у дозі 7000 та 10000 мг/кг встановлено появу білкових включень у звивистих каналцях кіркової речовини нирки (рис. 5.8). При цьому структурна цілісність епітелію каналців була збережена краще, ніж у зразках без подібних включень. Тобто, відмічено деякі відмінності морфологічних ознак нефротоксичної дії нано- TiO_2 та нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$, проте закономірності їх розвитку та дозозалежні ефекти потребують подальшого вивчення.

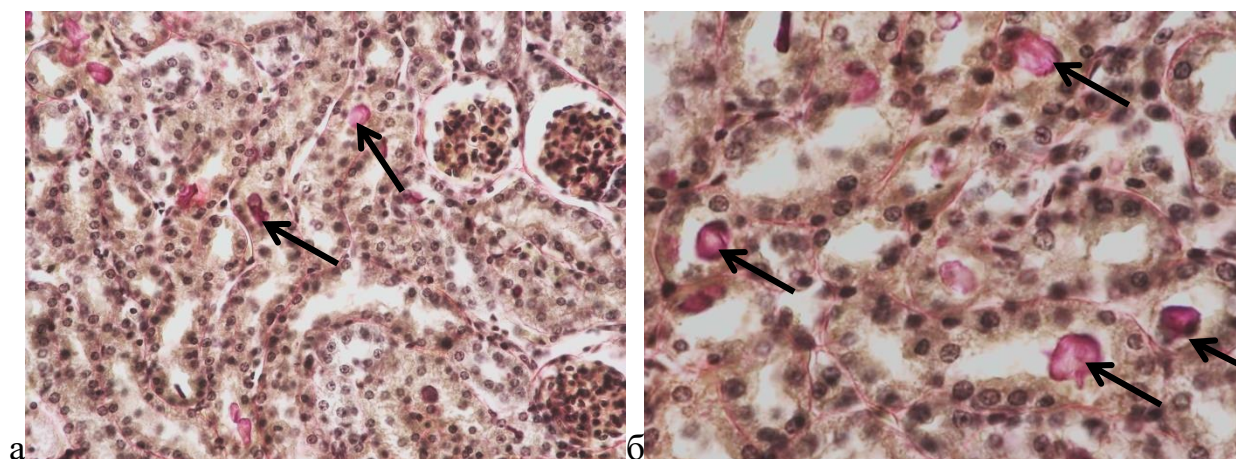
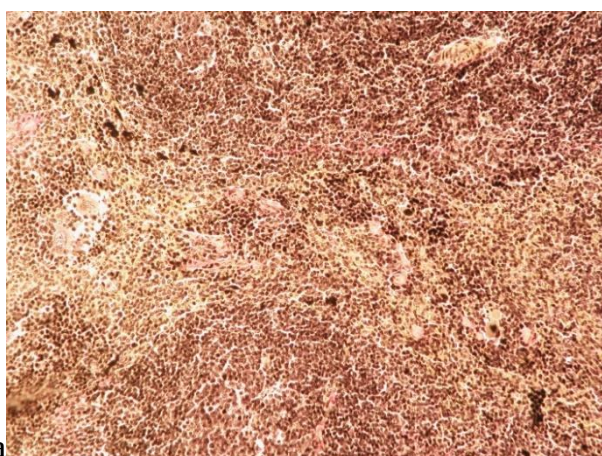


Рис. 5.8. Структурні зміни нирки мишей на 1 добу після одноразового внутрішньоочеревинного введення нано- TiO_2 у дозі 10000 мг/кг. Примітка: ← білкові включення у просвіті каналців. Сіріус червоний, гематоксилін Вейгерта. Зб. а:×400; б:×1000.

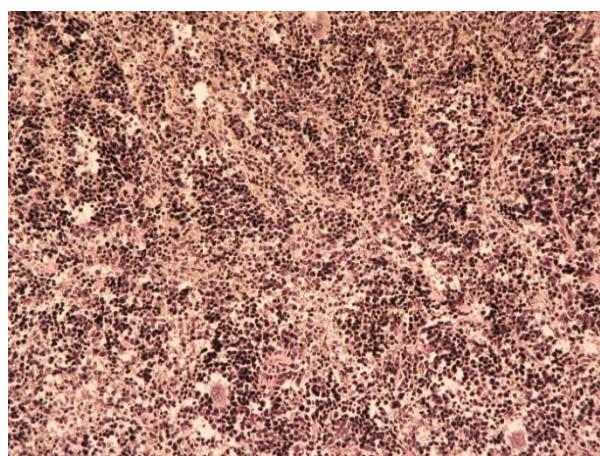
Дослідження морфологічних особливостей будови селезінки мишей після внутрішньоочеревинного введення нано- TiO_2 . Дослідження морфологічних особливостей будови селезінки було зосереджено на аналізі гістологічної будови капсули органу з трабекулами та паренхіми, яка представлена білою та червоною пульпою. Капсула і трабекули містили волокнисті елементи з колагену, щільність яких візуально не відрізнялась між

досліджуваними групами. У трабекулах реєстрували поодинокі трабекулярні артерії. Невеликі фрагменти трабекул спостерігали у паренхімі органу.

Паренхіма селезінки містила червону та білу пульпу. Остання представлена осередками лімфатичних фолікулів (рис. 5.9). У фолікулах відмічено гермінативний центр та периферійну зону (більш щільну за клітинним складом). Ексцентрично від лімфатичних фолікулів відмічено парафолікулярні кровоносні судини. Поодинокі судини відмічено також у червоній пульпі. У периферійній зоні реєстрували поодинокі макрофаги, скупчень фагоцитів не виявлено. Явних ознак збільшення щільності білої пульпи після введення нано- TiO_2 або нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ також не виявлено. Таким чином, у селезінці структурних ознак, які б могли вказувати на розвиток запалення або некрозу органу, не виявлено, а деякі незначні відмінності між групами порівняння можуть бути у межах норми реакції і тому потребують наступного вивчення.

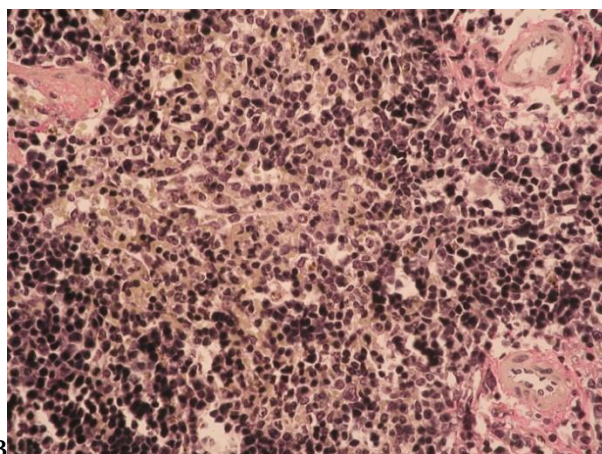


а

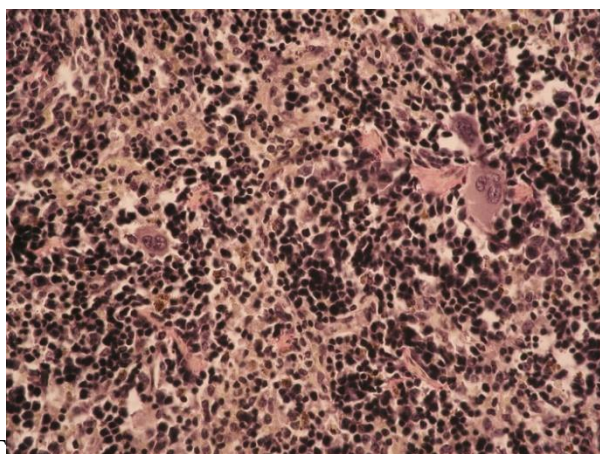


б

Група 4000 мг/кг нано- TiO_2 Зб. $\times 200$ Група 10000 мг/кг нано- TiO_2 Зб. $\times 200$



в



г

Група 4000 мг/кг нано-TiO₂-Ag

Зб. ×400

Група 10000 мг/кг нано-TiO₂-Ag

Зб. ×400

Рис. 5.9. Структурні зміни селезінки мишей після одноразового внутрішньоочеревинного введення нано-TiO₂ і нано-TiO₂-Ag. Сіріус червоний, гематоксилін Вейгерта.

Результати досліджень з виявлення титану в органах методом скануючої електронної мікроскопії з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопіїю. Для достовірного підтвердження накопичення нано-TiO₂ у внутрішніх органах лабораторних тварин після внутрішньоочеревинного введення нанопорошків TiO₂ було застосовано метод скануючої електронної мікроскопії (SEM) з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопіїю (EDX). Це дало можливість встановити наявність титану у кристалічних включеннях у органах і провести морфометричний аналіз (розмір) агломератів.

На рисунках 5.10-5.15 і у таблиці 5.5 показано результати виявлення агломератів нано-TiO₂. Результати на рисунках 5.10-5.15 представлено у вигляді поелементної картографії у досліджених гістологічних мікрорізах товщиною 4 мкм. На мікрофотографіях, які одержані методом SEM, вдалось виявити неорганічні агломерати та провести їх морфометрію.

На рисунку 5.10 представлено результати поелементної картографії по виявленню титану у печінці. На рисунку 5.11 показано результати виявлено нано-TiO₂ у тканині печінки на 1 добу після внутрішньоочеревинного введення. Морфометрія показала, що розміри наночастинок і їх агломератів коливаються у діапазоні від 80 нм до 20 мкм (рис. 5.11 А, Б, В). Спектрограма дозволила виявити 9 хімічних елементів. Виявлення в спектрах 1, 2 і 3 хімічних елементів вуглецю (С), азоту (N), кисню (O), натрію (Na), магнію (Mg), алюмінію (Al) і кальцію (Ca) мають біологічне походження, пов'язане з внутрішнім вмістом клітин тканин печінки. Наявний в спектрах титану (Ti) підтверджує присутність в тканині печінки наночастинок TiO₂ (табл. 5.5).

Таблиця 5.5. Результати аналізу поелементного складу у виявлених агломератах нано- TiO_2 у печінці (спектр 1) і контрольне дослідження біологічного зразка (спектр 2), скла (спектр 3)

Spectrum	C	N	O	Na	Mg	Al	Si	Ca	Ti	Total
Spectrum 1	24,5	-	40,5	0,4	-	-	1,2	0,4	<u>33,0</u>	100,0
Spectrum 2	59,8	12,9	14,2	1,6	0,5	0,2	8,7	1,6	0,3	100,0
Spectrum 3	35,0	-	33,8	4,3	1,2	0,3	20,4	4,0	0,7	100,0

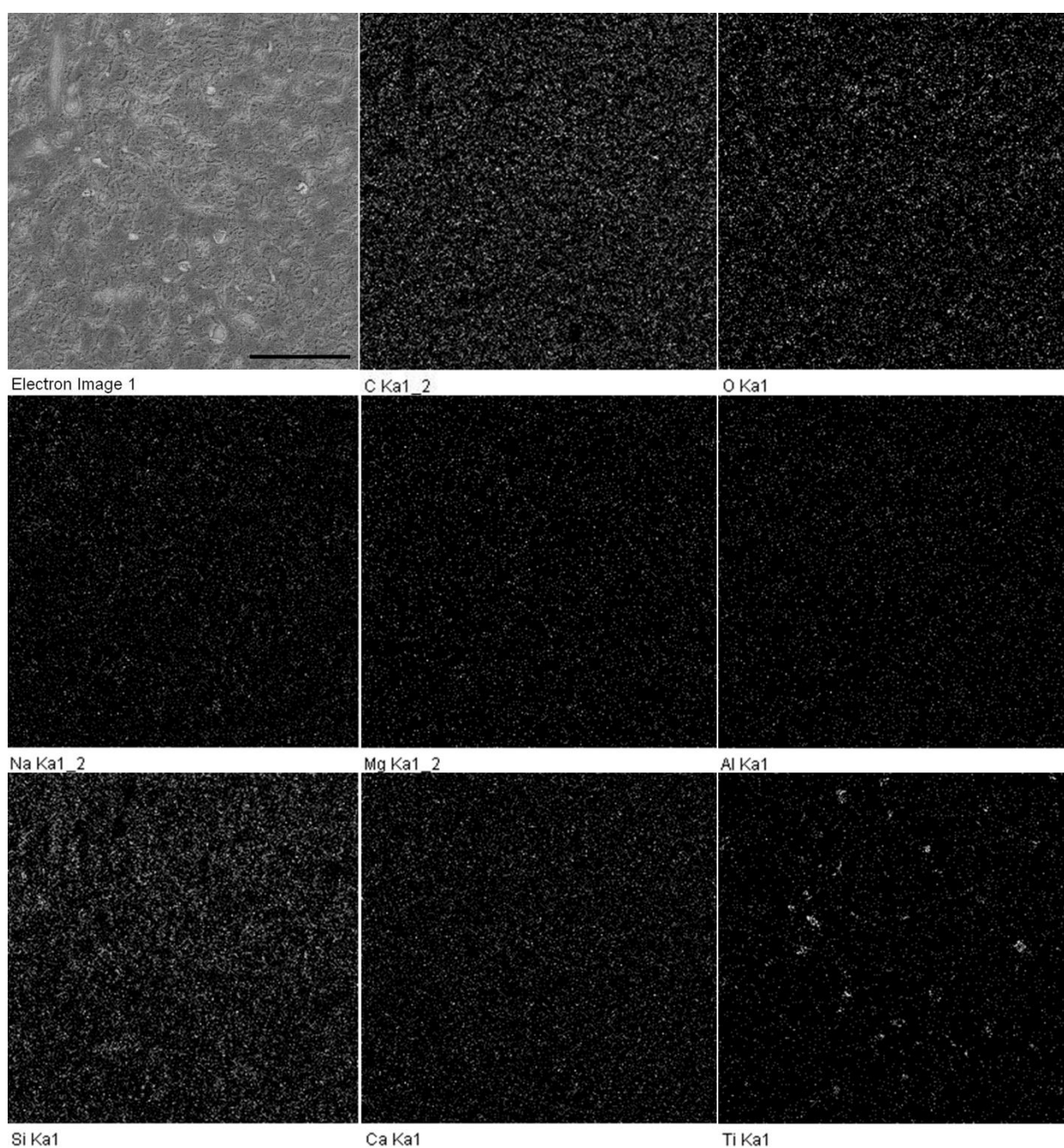


Рис. 5.10. Поелементна картографія за результатами виявлення nano-TiO₂ у печінці. Nano-TiO₂ у печінці мишей на 1 добу після внутрішньоочеревинного введення. Група 7000 мг/кг nano-TiO₂-Ag

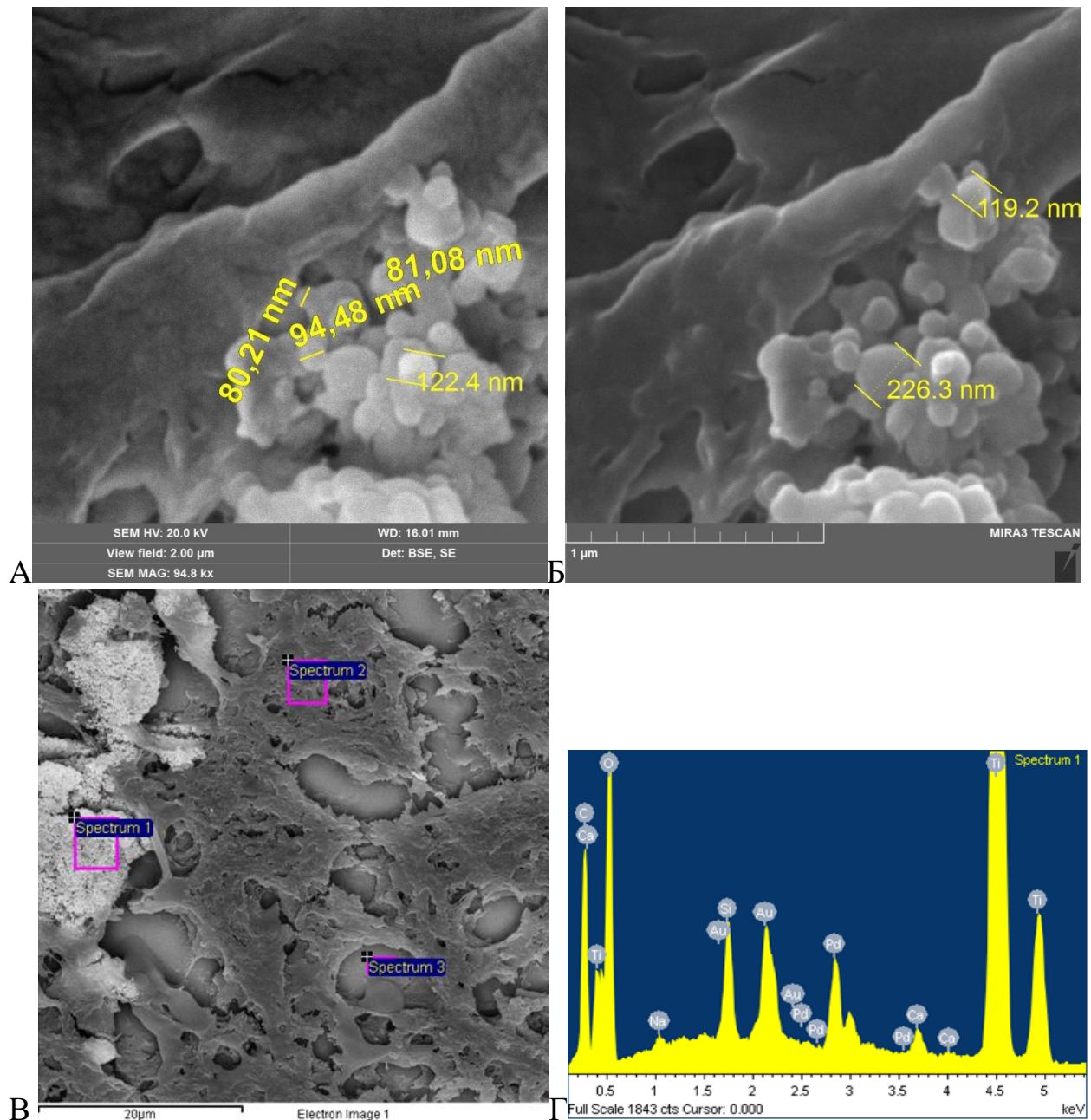


Рис. 5.11. Результати застосування SEM з морфометрією та поелементним аналізом nano-TiO₂. Агломерат nano-TiO₂ у печінці мишей на 1 добу після внутрішньоочеревинного введення. Примітка: А – режим дослідження BSE

(зворотновідбиті електрони); Б і В – режим дослідження SE (вторинні вибиті електрони з атомів); Г – виявлені спектри хімічних елементів.

На рисунку 5.12 показано результати виявлення титану у легенях мишей на 12 добу після внутрішньоочеревинного введення. Найбільші агломерати мали розмір до 1 мкм. Виявлення таких включень були поодинокими.

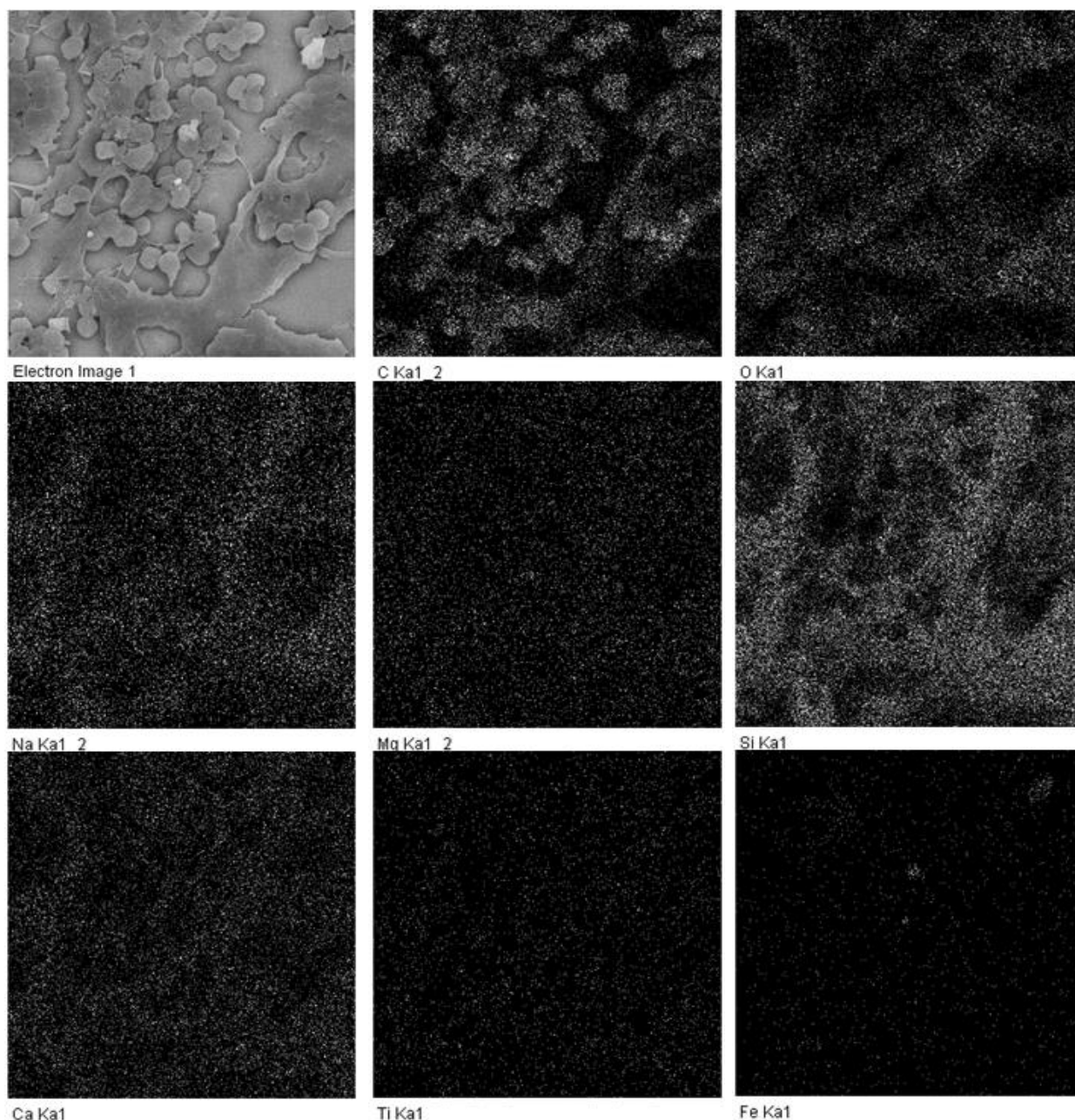


Рис. 5.12. Поелементна картографія за результатами виявлення нано- TiO_2 у легенях. Нано- TiO_2 у легенях мишей на 12 добу після внутрішньоочеревинного введення. Група 4000 мг/кг нано- TiO_2 -Ag

На рисунку 5.13 представлено результати поелементної картографії по виявленню титану у селезінці. Агломератів нано-TiO₂ не виявлено, наявність титану підтверджено тільки методом енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії.

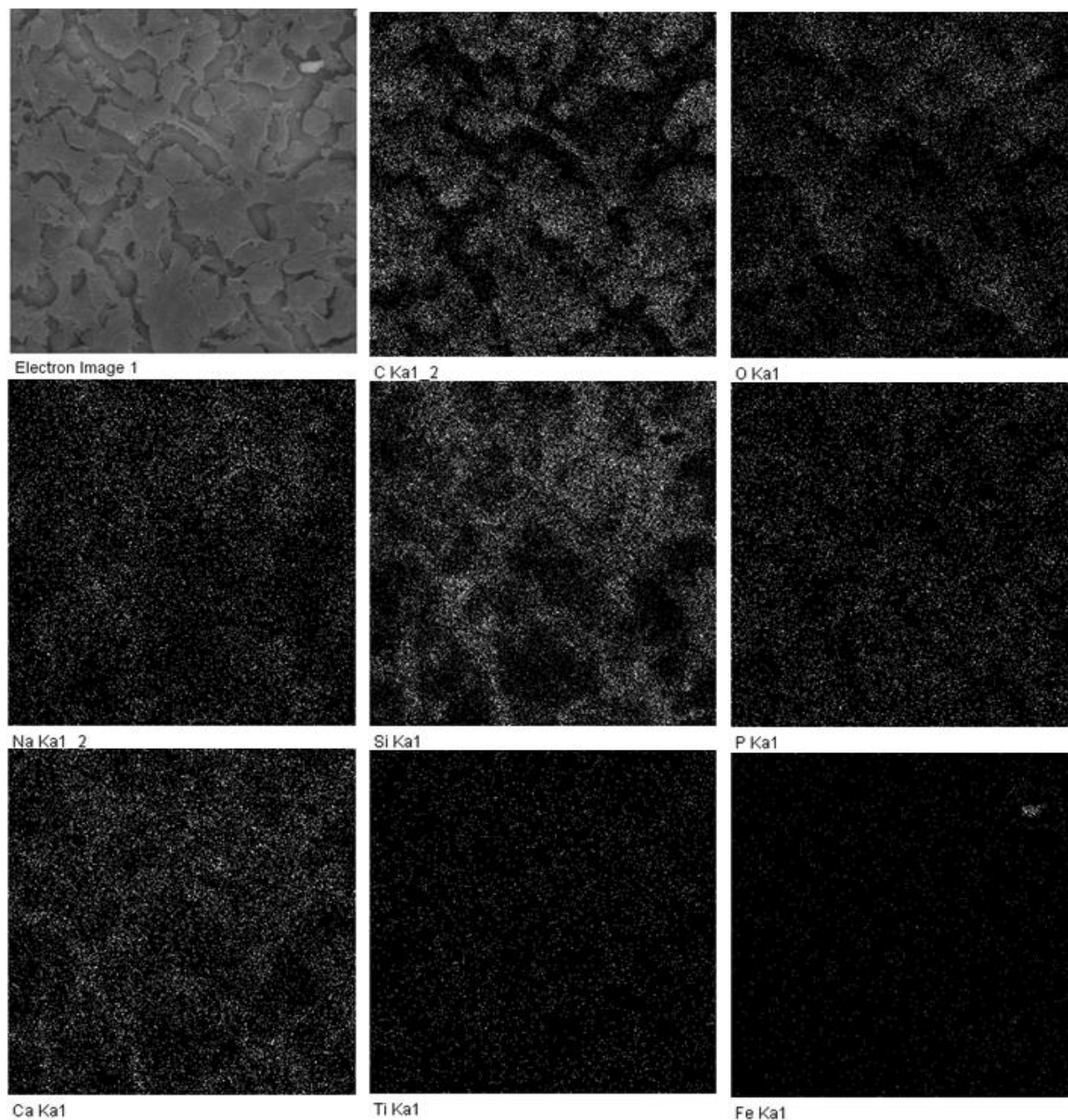


Рис. 5.13. Поелементна картографія за результатами виявлення нано-TiO₂ у селезінці. Нано-TiO₂ у селезінці мишей на 1 добу після внутрішньоочеревинного введення. Група 7000 мг/кг нано-TiO₂-Ag

На рисунку 5.14 представлено результати поелементної картографії по виявленню титану у нирці. Велика за розміром агломератів (до 20 мкм) нано- TiO_2 виявлено у ділянці капсули нирки (рис. 5.15).

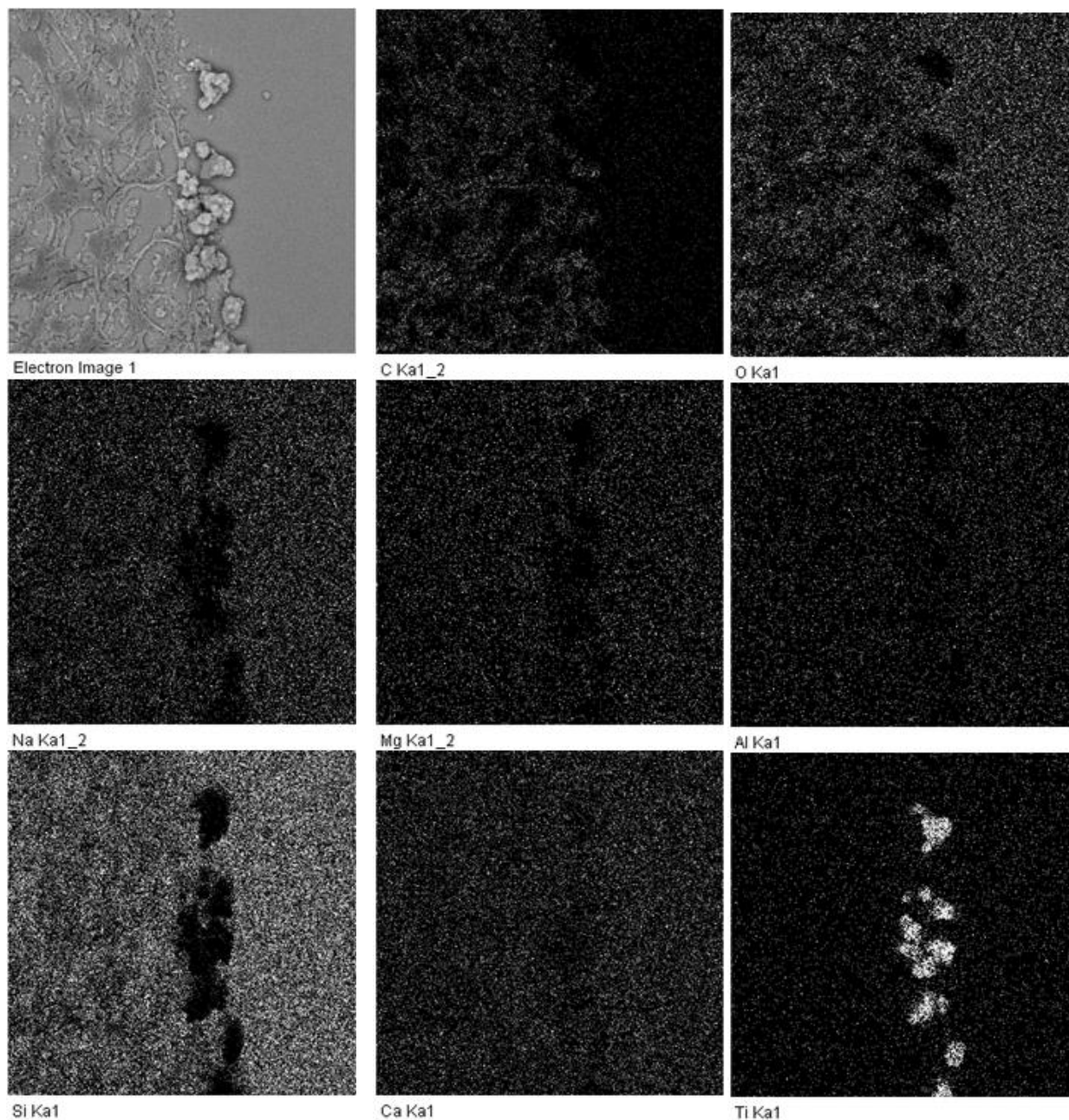


Рис. 5.14. Поелементна картографія за результатами виявлення нано- TiO_2 у нирці. Нано- TiO_2 у капсулі нирки мишей на 1 добу після внутрішньоочеревинного введення. Група 10000 мг/кг нано- TiO_2 .

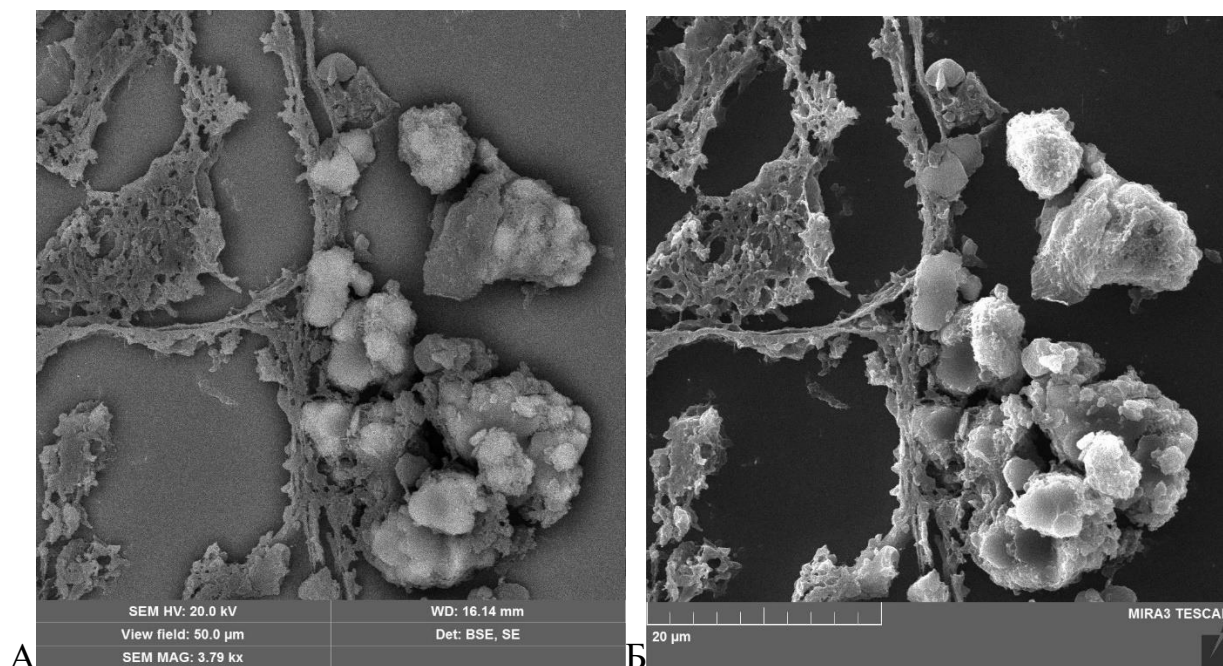


Рис. 5.15. Результати застосування СЕМ по виявленню TiO_2 у нирці мишей на 1 добу після внутрішньоочеревинного введення. Примітка: А – режим дослідження BSE; Б – режим дослідження SE. Група 10000 мг/кг TiO_2

Таким чином, поєднане застосування методу СЕМ та енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії дало можливість достовірно встановити наявність титану у неорганічних включеннях у органах (головним чином у печінці). Це доводить, що поява кристалічних включень на рівні капсули органів (печінка та нирка) і у паренхімі органів пов'язано з внутрішньоочеревинним введенням TiO_2 . У головному мозку, селезінці та серці агломератів TiO_2 не виявлено.

5.4. Дослідження впливу наночастинок діоксиду титану та наночастинок композиту діоксиду титану зі сріблом на функціональну активність мононуклеарних клітин крові за продукцією цитокінів *in vitro*

Дослідження шкідливого впливу наночастинок металів на імунну систему набуває пріоритетного значення в області сучасної імунотоксикології. Як зазначалось раніше основними шляхами надходження наночастинок в умовах

виробництва є інгаляційний і перкутанний, що створює ризик до розвитку у операторів нанотехнологічних установок низки алергічних захворювань таких як бронхіальна астма, алергічний риніт, кон'юктивіт, контактний дерматит [24, 136].

Для клінічного прогнозу виникнення і перебігу професійних захворювань у працівників нановиробництва важливим стає визначення чутливої ланки імунітету при впливі сучасних наноматеріалів, для яких характерні певні фізико-хімічні особливості, що впливають на механізм їх біологічної дії. При виготовленні нанопорошків має місце безпосередній контакт оператора з наночастинками і тому є ризик вдихання внаслідок забруднення повітря робочої зони пиловими частками як ультрамікроскопічного, так і нанодіапазону, а також потрапляння їх на одяг, шкіру та слизові оболонки працівника [24]. З сучасних даних літератури відомо, що наночастинки здатні долати біологічний бар'єр, розповсюджуватися по всьому організму та викликати відповідні реакції з боку різних органів і систем, в тому числі імунної. Питання впливу наноматеріалів (нано-TiO₂, нано-TiO₂-Ag) на імунні реакції до кінця не вивчено і потребує подальших досліджень в умовах *in vivo* та *in vitro*.

Нами вивчений вплив наноматеріалів (нано-TiO₂, нано-TiO₂-Ag) на функціональну активність мононуклеарних клітини периферичної крові здорових донорів в умовах *in vitro* за продукцією цитокінів інтерлейкіну-1 (IL-1), інтерлейкіну-4 (IL-4), інтерлейкіну-6 (IL-6), фактора некрозу пухлини альфа (TNF- α). У дослідженні взяли участь 30 здорових донорів-добровольців, у яких після інформованої згоди була взята периферична кров для дослідження *in vitro*. Результати загального аналізу крові донорів підтвердили відсутність відхилень від норми.

Мононуклеарні клітини інкубували при стимуляції мітогеном фітогемоглютиніном (мітоген ФГА), нано-TiO₂, нано-TiO₂-Ag в концентрації по 30 мкг/мл та без стимулюючого агента.

Оцінка функціональної активності мононуклеарних клітин проводилась за продукцією IL-1 під впливом наноматеріалів в умовах *in vitro*. IL-1 – один з важливих прозапальних цитокінів, який продукується активованими

макрофагами, а також може продукуватися й іншими клітинами: епітеліальними, ендотеліальними, гліальними, фібробластами, кератиноцитами. Роль ІЛ-1 в імунній відповіді надзвичайно важлива. Продукція ІЛ-1 слугує регуляторним механізмом у відповідь організму на пошкодження. Під його впливом у момент презентації макрофагами антигенного пептиду Т-лімфоцитам-хелперам 1 типу останні починають продукувати ІЛ-2. Крім того, одночасно під впливом ІЛ-1 на Т-лімфоцитах експресуються рецептори до ІЛ-2. Таким шляхом, створюються умови для подальшої проліферації лімфоцитів і дозрівання клону специфічно активованих клітин. ІЛ-1 підсилює експресію молекул клітинної адгезії, що призводить до підвищення продукції інших прозапальних цитокінів – інтерферону альфа (IFN- α), TNF- α , ІЛ-6, інтерлейкіну-8 (ІЛ-8) і активує гранулоцити, фібробласти, остеокласти, кератиноцити, природні кілери (НК-клітини) [24]. У зв'язку з цим, вкрай важливим є вивчення можливого впливу наноматеріалів на продукцію ІЛ-1 мононуклеарними клітинами донорів при впливі на них в умовах *in vitro*. Отримані результати представлені на рисунку 5.16.

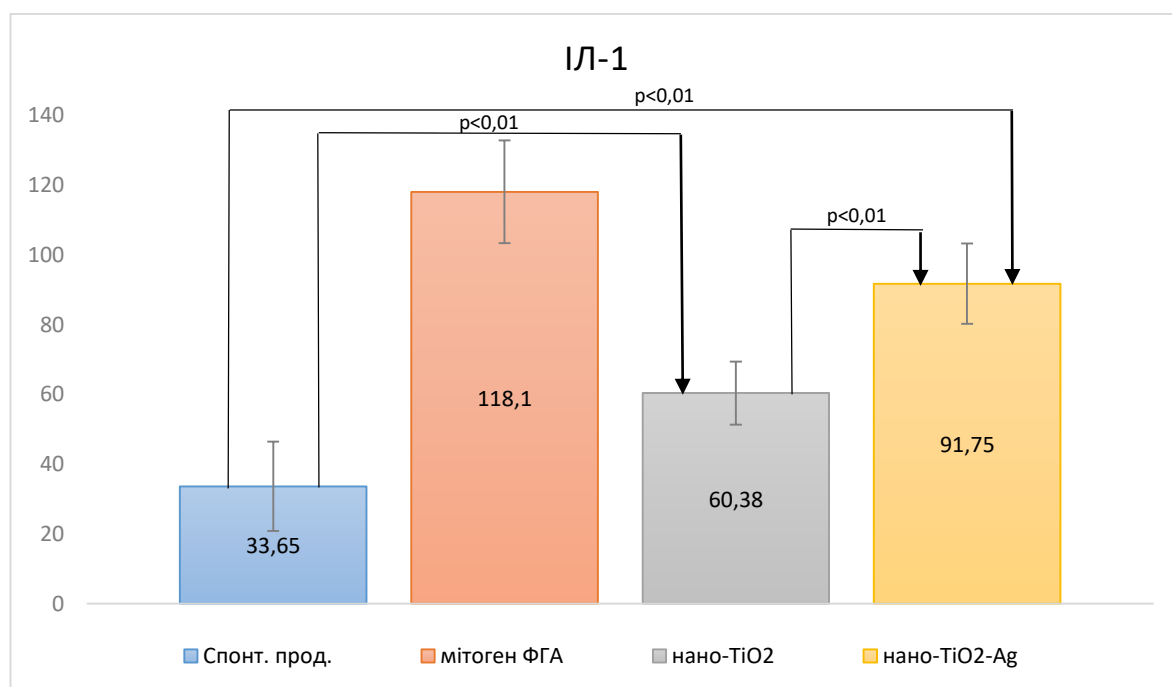


Рисунок 5.16. Порівняльна продукція ІЛ-1 мононуклеарними клітинами *in vitro* у донорів під впливом наноматеріалів, пкг/мл

Як з'ясувалося (рисунок 5.16) в процесі дослідження, спонтанна продукція ІЛ-1 мононуклеарними клітинами периферичної крові в системі *in vitro* склала середнє (М) \pm середнє квадратичне відхилення (SD) $33,65 \pm 12,83$ пкг/мл. При додаванні мітогена фітогемоглютиніна (мітоген ФГА) продукція клітинами ІЛ-1 підвищувалася до $118,1 \pm 14,73$ пкг/мл. При стимуляції мононуклеарних клітин наноматеріалами у відповідних концентраціях нано- TiO_2 продукція ІЛ-1 підвищилася до $60,38 \pm 9,04$ пкг/мл (в 1,79 разів $p < 0,01$), для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – $91,75 \pm 11,49$ пкг/мл (в 2,73 рази $p < 0,01$) в порівнянні з спонтанною продукцією. Порівнюючи вплив наноматеріалів між собою на функціональну активність мононуклеарних клітин під дією нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ спостерігаємо збільшення продукції ІЛ-1 в 1,52 рази ($p < 0,01$) в порівнянні з нано- TiO_2 .

Оцінка функціональної активності мононуклеарних клітин за продукцією ІЛ-6 під впливом нанокompatитних матеріалів у донорів в умовах *in vitro*. ІЛ-6, як відомо, регулює імунну відповідь, фазу гострої відповіді, запалення, онкогенез і гемопоез. Однією з основних функцій ІЛ-6 є регуляція процесів дозрівання антитілпродукуючих клітин із В-лімфоцитів і самої продукції імуноглобулінів. Результати дослідження продукції *in vitro* ІЛ-6 під впливом наноматеріалів представлені на рисунку 5.17.

Як видно з рисунка 5.17, спонтанна продукція ІЛ-6 мононуклеарними клітинами крові характеризувалася рівнем медіани (М) (95% вірогідний інтервал, ВІ) 14,0 (ВІ 12,6-25,8) пкг/мл. Під впливом мітогену ФГА спостерігалася підвищення продукції ІЛ-6 до рівня 123,4 (ВІ 100,0-129,7) пкг/мл. При додаванні до мононуклеарних клітин наноматеріалів у відповідних концентраціях нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ продукція ІЛ-6 збільшилася до 75,8 (ВІ 71,8-87,4) пкг/мл (в 5,41 раз $p < 0,01$) в порівнянні з спонтанною продукцією. Порівнюючи вплив наноматеріалів між собою на функціональну активність мононуклеарних клітин за продукцією ІЛ-6 спостерігаємо при додаванні нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ збільшення в 2,1 раз ($p < 0,05$) в порівнянні при дії нано- TiO_2 .

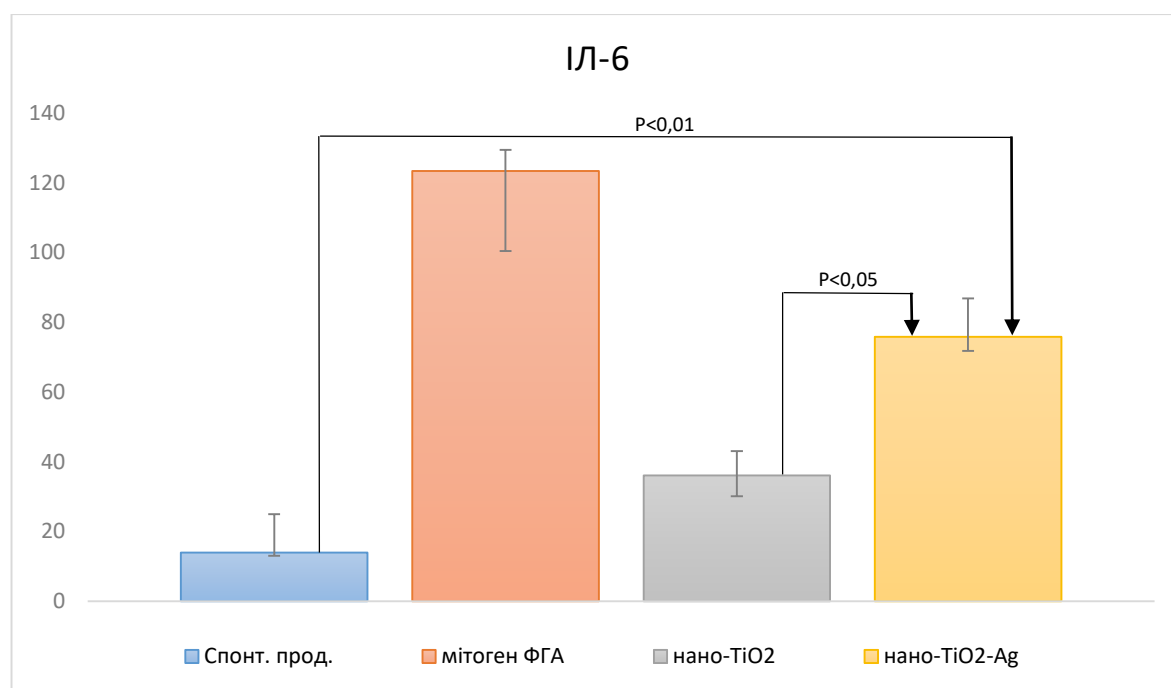


Рисунок 5.17. Порівняльна продукція ІЛ-6 мононуклеарними клітинами *in vitro* у донорів під впливом наноматеріалів, пкг/мл

Оцінка функціональної активності мононуклеарних клітин крові за продукцією TNF- α під впливом наноматеріалів у донорів в умовах *in vitro*. Фактор некрозу пухлин (TNF- α) продукується різними типами клітин, включаючи моноцити-макрофаги, Т- і В-лімфоцити. TNF- α відноситься до класичних прозапальних цитокінів, який здатний активувати респіраторний вибух у нейтрофільних лейкоцитах та призводить до посилення клітингової активності фагоцитуючих клітин. Крім того, TNF- α посилює синтез лімфокінів хелперними Т-лімфоцитами і стимулює ріст В-клітин. У високій концентрації він є важливим медіатором, що викликає розвиток ендотоксин-індукованого септичного шоку. TNF- α сприяє проліферації Т- і В-лімфоцитів, активації ЕК-клітин і макрофагів, підсилює продукцію простагландинів, за посередництва яких реалізуються багато токсичних ефектів [24]. Отримані результати впливу різних нанокompозитних матеріалів на продукцію TNF- α в умовах *in vitro* представлені на рисунку 5.18.

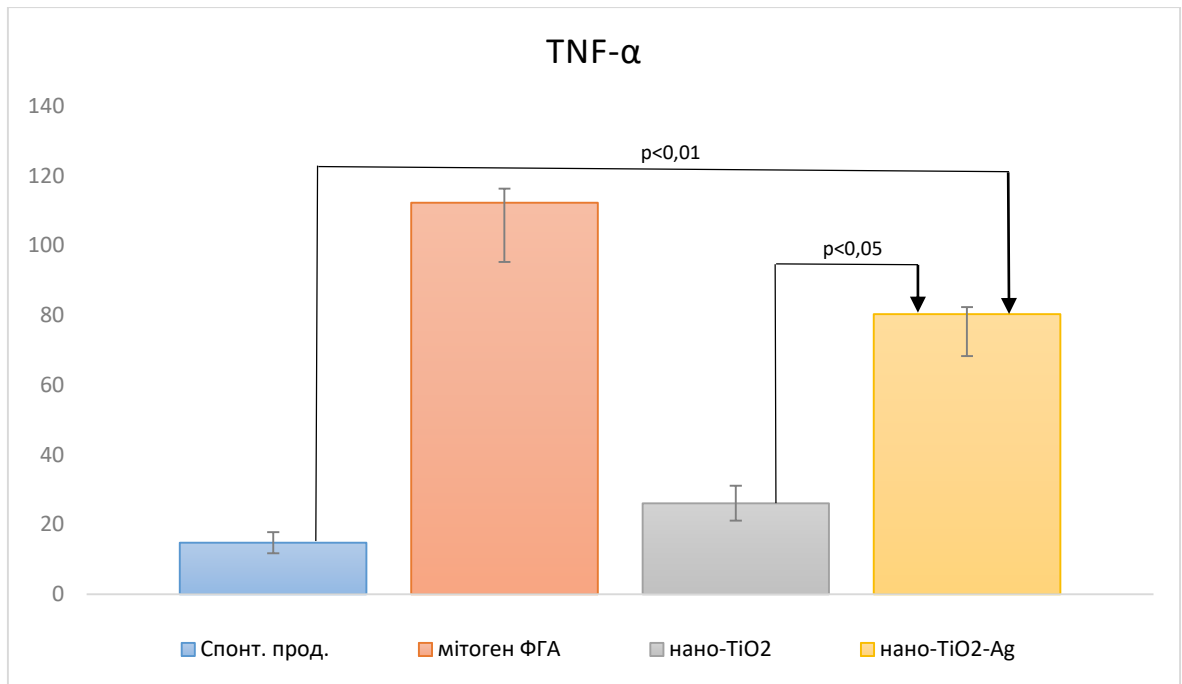


Рисунок 5.18. Порівняльна продукція TNF- α мононуклеарними клітинами *in vitro* у донорів під впливом наноматеріалів, пкг/мл

Як видно з рисунку 5.18, медіана спонтанної продукції TNF- α становила 14,8 (ВІ 11,7-18) пкг/мл. Під впливом мітогену ФГА виявлено підвищення продукції TNF- α до 112,3 (ВІ 94,9-116,3) пкг/мл. При стимуляції мононуклеарних клітин наноматеріалами у відповідних концентраціях нано-TiO₂-Ag продукція TNF- α збільшилась до 80,3 (ВІ 68,0-82,4) пкг/мл (в 5,43 рази $p < 0,01$) в порівнянні з спонтанною продукцією. Порівнюючи вплив наноматеріалів між собою на функціональну активність мононуклеарних клітин за продукцією TNF- α спостерігаємо при додаванні нано-TiO₂-Ag збільшення в 3,08 рази ($p < 0,05$) в порівнянні при дії нано-TiO₂.

Як впливає з наведеного, експерименти в умовах *in vitro* показали, що наноматеріали здатні підвищувати функціональну активність мононуклеарних клітин по продукції IL-1, IL-6 та TNF- α , які в нормі регулюють взаємодію клітин імунної системи, а при запаленні виконують функції активаторів запалення і тканинного пошкодження .

Визначення функціональної активності мононуклеарних клітин крові за продукції IL-4 під впливом наноматеріалів у донорів в умовах *in vitro*. Як відомо,

IL-4 індукує диференціювання попередників В-лімфоцитів, викликає проліферацію вже активованих В-клітин та експресію клітинних рецепторів до імуноглобуліну Е (Ig E). Дія IL-4 на ріст і диференціювання В-лімфоцитів опосередковано зв'язуванням IL-4 зі специфічними рецепторами на їх поверхні.

Вважають, що IL-4, який індукує проліферацію В-лімфоцитів, посилює експресію рецепторів до Fc-фрагменту Ig E і є антагоністом IFN- α , пригнічуючи продукцію IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8 і цитотоксичну активність Т-лімфоцитів, відіграє важливу роль у формуванні алергічних реакцій негайного типу.

Сьогодні існує теорія, що алергічні захворювання викликаються порушенням регуляції імунної системи внаслідок активації CD4⁺ Т хелперів 2 типу і підвищеною секрецією цитокінів, включаючи IL-4, який сприяє синтезу IgE, активізації тучних клітин та еозинофілів. В результаті розвивається алергічне запалення до розвитку алергічних захворювань (бронхіальні астма, алергічний риніт та дерматит) [137].

Отримані нами результати визначення функціональної активності мононуклеарів периферичної крові по продукції IL-4 під впливом нанокompatитних матеріалів у донорів в умовах *in vitro* представлені на рисунку 5.19.

Як видно з рисунка 5.19 спонтанна продукція IL-4 клітинами мононуклеарного ряду характеризувалася рівнем 17,6 (ВІ 16,1-18,7) пкг/мл. Під впливом мітогену ФГА спостерігалось підвищення продукції IL-4 до рівня 84 (ВІ 78-98,8) пкг/мл. При стимуляцією мононуклеарних клітин наноматеріалами у відповідних концентраціях нано-TiO₂-Ag продукція IL-4 збільшилась до 60,8 (ВІ 52,8-77,6) пкг/мл (в 3,45 рази $p < 0,01$) в порівнянні з спонтанною продукцією. Порівнюючи вплив наноматеріалів між собою на функціональну активність мононуклеарних клітин за продукцією IL-4, спостерігаємо, що при додаванні нано-TiO₂-Ag збільшується в 2,07 разу ($p < 0,01$) у порівнянні з нано-TiO₂.

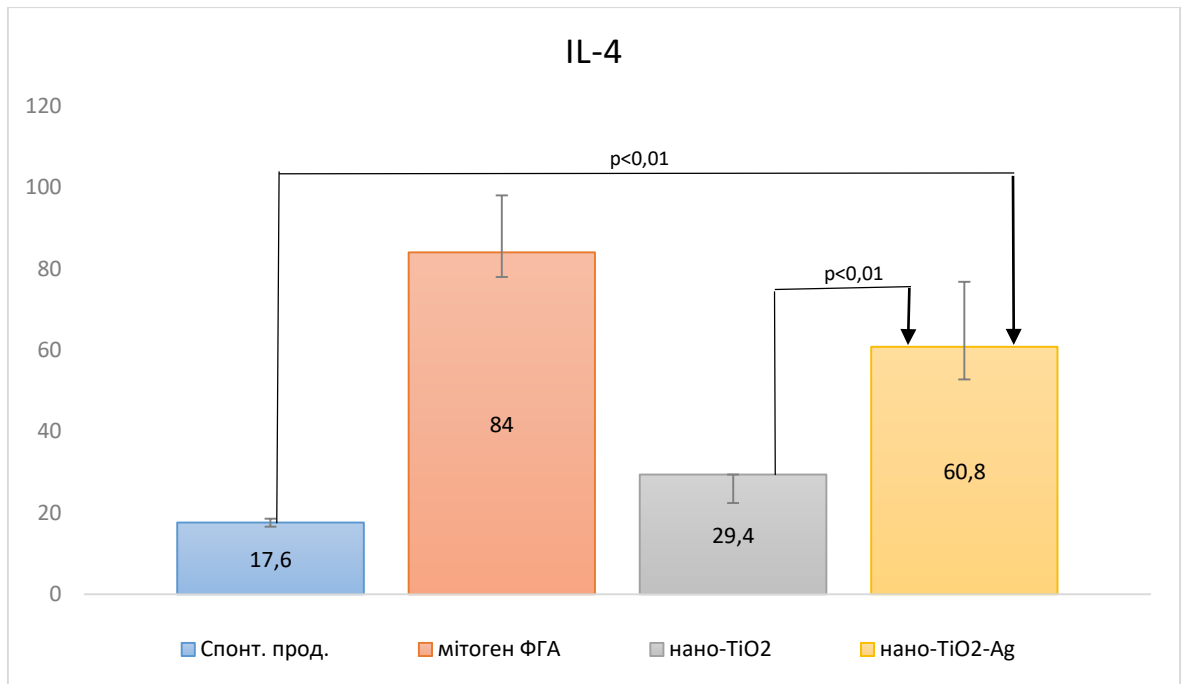


Рисунок 5.19. Порівняльна продукція ІЛ-4 мононуклеарними клітинами *in vitro* у донорів під впливом наноматеріалів, пкг/мл

Із зазначеного випливає, що вивчення *in vitro* впливу сучасних наноматеріалів на імунокомпетентні клітини є одним з ключових параметрів при визначенні їх імуноспецифічної активності і може слугувати основою для оптимізації подальших профілактичних заходів для відповідної категорії працівників нановиробництва.

Насамперед, це стосується вивчення функціональної активності імунокомпетентних клітин шляхом аналізу їх проліферативної здатності і особливо продукції цитокінів, які відіграють роль медіаторів, що забезпечують кооперативну міжклітинну взаємодію. Патогенетичним обґрунтуванням виникнення імунодефіцитного стану у людини, що контактує з нанокompatитними матеріалами може слугувати зниження якості міжклітинної взаємодії між мононуклеарними клітинами периферичної крові, що пов'язане з порушеннями регуляції синтезу цитокінів [24, 138]. В останні роки, завдяки розвитку методів кількісного визначення рівнів продукції цитокінів був досягнутий значний прогрес у розумінні ролі цих речовин в нормі і при патології. Вивчення продукції цитокінів дозволяє отримати інформацію про

функціональну активність різних типів імунокомпетентних клітин; про тяжкість запального процесу, його перехід на системний рівень, прогноз та стадії розвитку ряду важких ускладнень.

У дослідженнях Chao Huang та співавторів продемонстровано, що макрофаги під дією наночастинок TiO_2 збільшують продукцію прозапальних цитокінів IL-1b, IL-6, IL-12a, і TNF, але пригнічують секрецію протизапальних факторів CD163, Retn1a, Clec10a, IL-4 та IL-10. Таким чином, автори показали пригнічену фагоцитарну та бактерицидну активність макрофагів під дією нано- TiO_2 . В експерименті на мишах, які зазнали впливу нано- TiO_2 , авторами було підтверджено слабкі функції вродженого імунітету, посилення запальних реакції, порушення імунного балансу, підвищення сприйнятливості до бактеріальної інфекції, що викликало септичний шок і зниження загального виживання [139].

Отже, експерименти в умовах *in vitro* показали, що наноматеріали у концентраціях 30 мкг/мл нано- TiO_2 -Ag здатні підвищувати функціональну активність мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією прозапальних цитокінів IL-1, IL-6, TNF- α та продукцію IL-4 у донорів ($p < 0,05$), що свідчить про можливий потенційний вплив на формування хронічного запалення та алергічних реакцій у відповідній категорії працівників нановиробництва. Під впливом наноматеріалу у концентрації 30 мкг/мл нано- TiO_2 на мононуклеарні клітини периферичної крові спостерігаємо статистично значиме збільшення продукції IL-1 ($p < 0,01$), а продукція IL-6, TNF- α , IL-4 не є статистично значимою в порівнянні із спонтанною продукцією. Функціональна активність мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією цитокінів (IL-1, IL-6, TNF- α , IL-4) зростає під впливом досліджуваних наночастинок у відповідних концентраціях у ряді нано- TiO_2 , нано- TiO_2 -Ag ($p < 0,05$), що свідчить про найбільшу потенційну небезпеку імунотоксичності нано- TiO_2 -Ag для працівників, що працюють у відповідних умовах нановиробництва. Одержані результати будуть враховані при обґрунтуванні гігієнічних нормативів для нано- TiO_2 і нано- TiO_2 -Ag в повітрі робочої зони.

5.5. Порівняльна оцінка пошкоджуючої дії наночастинок діоксиду титану та діоксиду титану з сріблом на статеві клітини кнурів в експерименті *in vitro*

Сучасні наноматеріали на основі діоксиду титану, зокрема модифіковані наносріблом, володіють противірусною, антибактеріальною, протигрибковою активністю, цитотоксичною дією в експериментах *in vitro* та можуть уражувати статеві клітини теплокровних лабораторних тварин. Відомо, що наночастинки на основі діоксиду титану характеризуються високою біологічною активністю і можуть впливати не лише на віруси, бактерії, гриби, а й чинити токсичну дію на організм теплокровних лабораторних тварин. Останнє вказує на необхідність подальшого вивчення токсичного впливу згаданих сполук, зокрема, на таку чутливу частину організму, як статеві клітини, що може бути здійснено з використанням біологічних моделей [140-141]. Паралельно з дослідженнями токсиколого-гігієнічних властивостей нових наноматеріалів ведеться активний пошук простих і адекватних біологічних моделей для їх вивчення. Мета нашого дослідження полягала у вивченні впливу різних типів наночастинок на основі діоксиду титану на фізіолого-біохімічні характеристики модельних клітин – статевих клітин кнурів в експерименті *in vitro*.

Вибір як тест-об'єкта сперматозоїдів обумовлений тим, що, незважаючи на порівняно короткий (до декількох діб) період життя, їх біологічні особливості (плазматична мембрана і акросома, що є ліпопротеїдними та глікопротеїдними утвореннями, щільність упаковки білків і нуклеїнових кислот в ядрі, малий вміст води, низький рівень метаболізму в нерухомому стані) зумовлюють високу стійкість до зовнішніх впливів. У той же час, сперматозоїди більш чутливі до оксидативного стресу, ніж інші клітини, через велику кількість поліненасичених жирних кислот, які легко піддаються перекисному окисненню; незначну кількість цитоплазми, що містить низьку концентрацію ДНК-відновлювальних систем та антиоксидантних ензимів, які виявляються нездатними захистити клітинну мембрану на рівні хвоста і акросоми. Накопичення перекисів ліпідів у

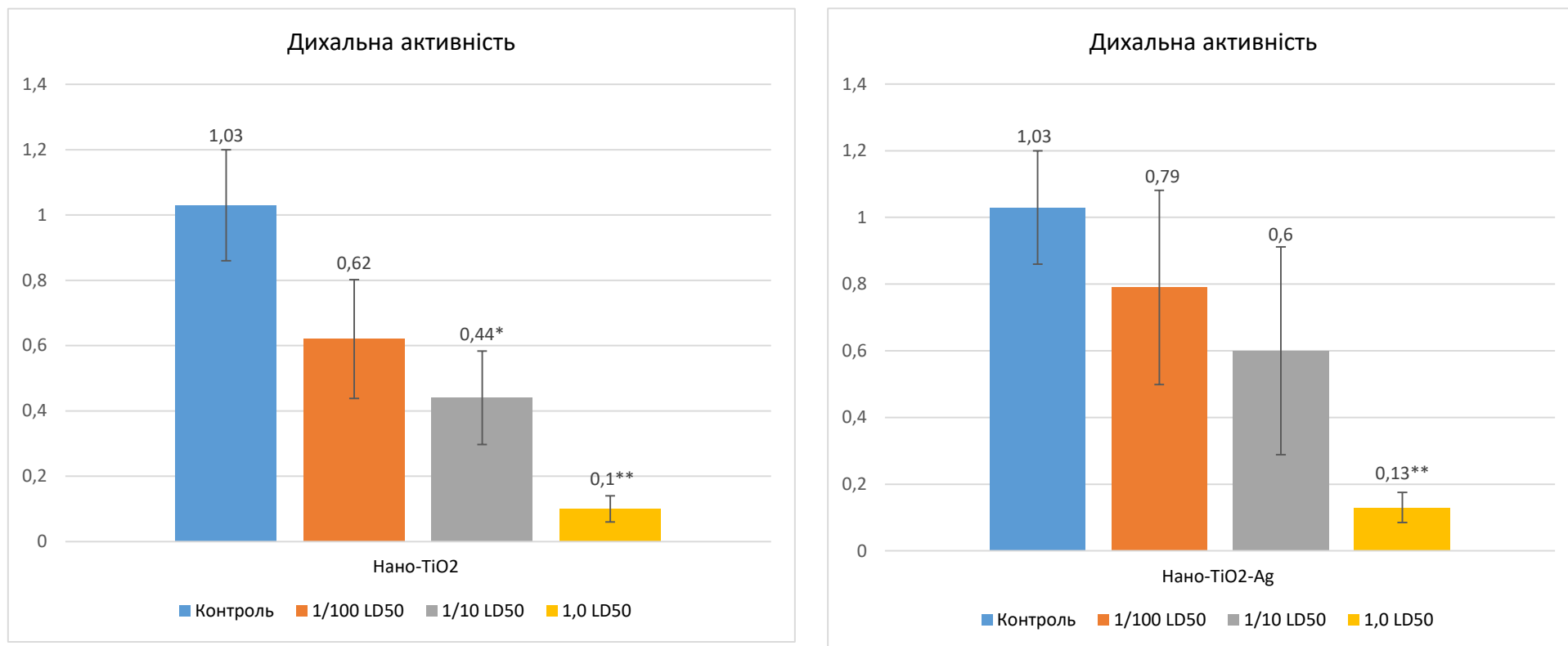
тканинах супроводжується руйнуванням молекулярної структури клітинних мембран, найважливішими компонентами яких є фосфоліпіди. Інтенсифікація процесів перекисного окиснення ліпідів залежить від ступеня пошкодження мембран сперматозоїдів [142, 143].

У свою чергу, дані щодо пошкоджуючої дії (за рахунок оксидативного стресу) титановмісних наноматеріалів на статеві клітини теплокровних тварин, потребують підтвердження та розширення. Методика дослідження детально описана в розділі 2 «Програма, обсяг і методи досліджень».

Дослідні зразки експонували наноматеріалами у дозах 1/100 LD₅₀, 1/10 LD₅₀ і 1,0 LD₅₀, перерахованих на мл сперми. Розраховані кількісні дози LD₅₀ на мл сперми: для нано-TiO₂ – 47 мкг/мл і для нано-TiO₂-Ag – 7 мкг/мл. У контрольних та дослідних зразках визначали показники дихальної активності (нг-атом O₂/0,1 мл за хв), активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) (од/год×0,1 мл), активність цитохромоксидази (од/год×0,1 мл) і виживання сперміїв (год).

Як показали наші дослідження, дихальна активність сперміїв під впливом наночастинок діоксиду титану достовірно знижується проти контролю, починаючи з дози 1/10 LD₅₀ і вище (рисунок 5.20). Так, значення дихальної активності за дії нано-TiO₂ достовірно зменшується на 57,3 % проти контролю ($p < 0,05$) з $1,03 \pm 0,17$ до $0,44 \pm 0,143$ (нг-атом O₂/0,1 мл за хв). Наночастинки TiO₂ з додаванням срібла на рівні згаданої дози на дихальну активність достовірно не впливають – за дії нано-TiO₂-Ag дихальна активність, яка становить $0,60 \pm 0,312$ зменшується (на 23,3 %) проти контролю, що становить $(1,03 \pm 0,17)$.

В дозі 1,0 LD₅₀ достовірний вплив на дихальну активність сперміїв чинять обидва нанопорошки: за дії нано-TiO₂ величина дихальної активності зменшується на 90,3 % ($p < 0,001$) з $0,10 \pm 0,040$ (нг-атом O₂/0,1 мл за хв) проти контролю ($1,03 \pm 0,17$) та за дії нано-TiO₂-Ag величина дихальної активності зменшується на 87,4 % ($p < 0,001$) з $0,13 \pm 0,045$ проти контролю ($1,03 \pm 0,17$).



Примітка. Різниця статистично вірогідна проти контролю: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$

Рисунок 5.20. Дихальна активність спермійів за дії наночастинок на основі діоксиду титану (нг-атом $O_2/0,1$ мл за хв, $n=6$, $M \pm m$)

Слід зауважити, що експонування статевих клітин кнурів нанопорошком TiO_2 , доповненим наносріблом в дозі $1/10 \text{ LD}_{50}$, призводив до генерування кисню у двох із шести досліджуваних зразків (33,3 %). Вочевидь, комплекс нано- TiO_2 -Ag за максимального вмісту в модельному середовищі порушує перебіг окиснювальних процесів у сперміях із подальшим стимулюванням процесів вільнорадикального окиснення з руйнуванням комплексів ліпід-ліпід та ліпід-протеїн в мембранах, порушення ресинтезу аденозинтрифосфатної кислоти (АТФ) і загибель клітин (апоптоз чи некроз). Отриманий результат свідчить, про те що комплекс TiO_2 -Ag також чинить ефект, що характеризує ушкодження мембран і порушення метаболізму клітин.

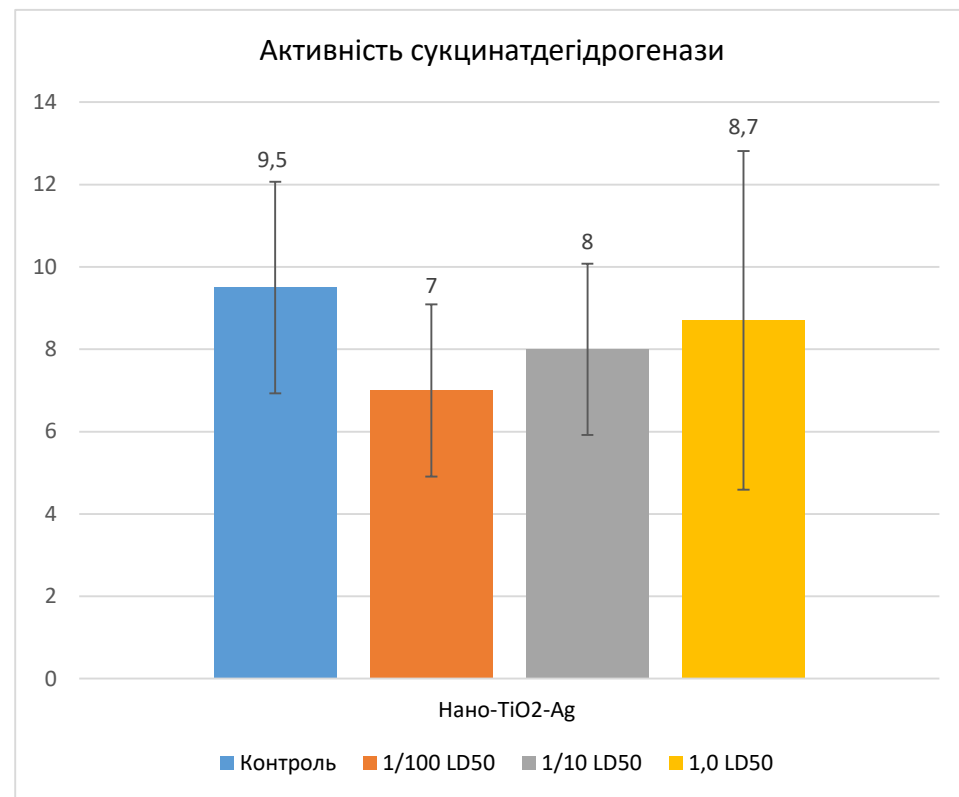
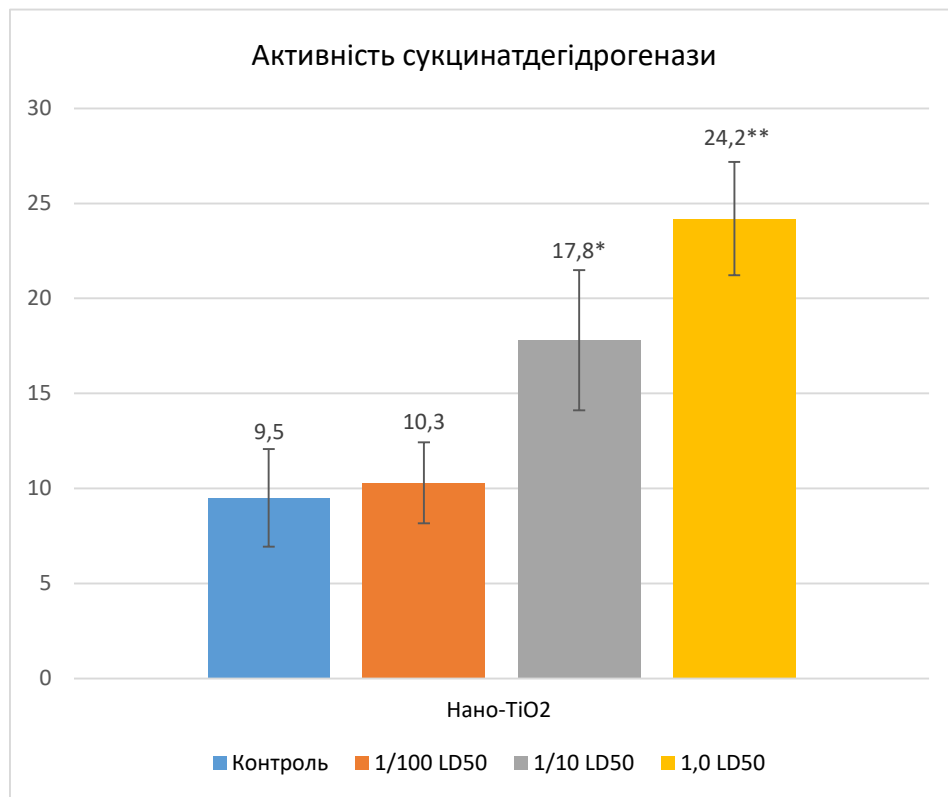
При дослідженні дихальної активності сперміїв обох типів вищезгаданих наночастинок на основі діоксиду титану спостерігається низька кореляція між введеною дозою та ступенем вираженості ефекту (величина η^2 для нано- TiO_2 становить 0,228, для нано- TiO_2 -Ag – 0,161).

Пригнічення дихальної активності сперміїв під впливом наночастинок на основі діоксиду титану, ймовірно, зумовлене порушенням використання субстратів і транспорту електронів у дихальному ланцюзі мітохондрій клітин, що характеризується змінами активності мітохондріальних ензимів.

За результатами дослідження (рисунок 5.21) встановлено, що під впливом нано- TiO_2 в дозі $1/10 \text{ LD}_{50}$ у зразках підвищувалась активність СДГ з $9,5 \pm 2,57$ (контроль) до $17,8 \pm 3,69$ (на 87,4 %; $p < 0,05$). В дозі $1,0 \text{ LD}_{50}$ підвищувалась активність СДГ до $24,2 \pm 2,98$ проти контролю на 154,7 % ($p < 0,01$). Зокрема, встановлено достовірне дозозалежне підвищення активності СДГ, про що свідчить величина кореляції η^2 рівна 0,415.

Нано- TiO_2 -Ag на рівень згаданого фермента (СДГ) достовірно не впливав (рисунок 5.21), що підтверджується, зокрема, низьким кореляційним відношенням (величина η^2 рівна 0,017).

Достовірного зниження активності ферменту цитохромоксидази (ЦХО) для досліджуваних наноматеріалів не було зафіксовано (рисунок 5.22).



Примітка. Різниця статистично вірогідна проти контролю: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

Рисунок 5.21. Активність сукцинатдегідрогенази сперміїв при дії наночастинок на основі діоксиду титану (од/год×0,1 мл, n=6, M±m)

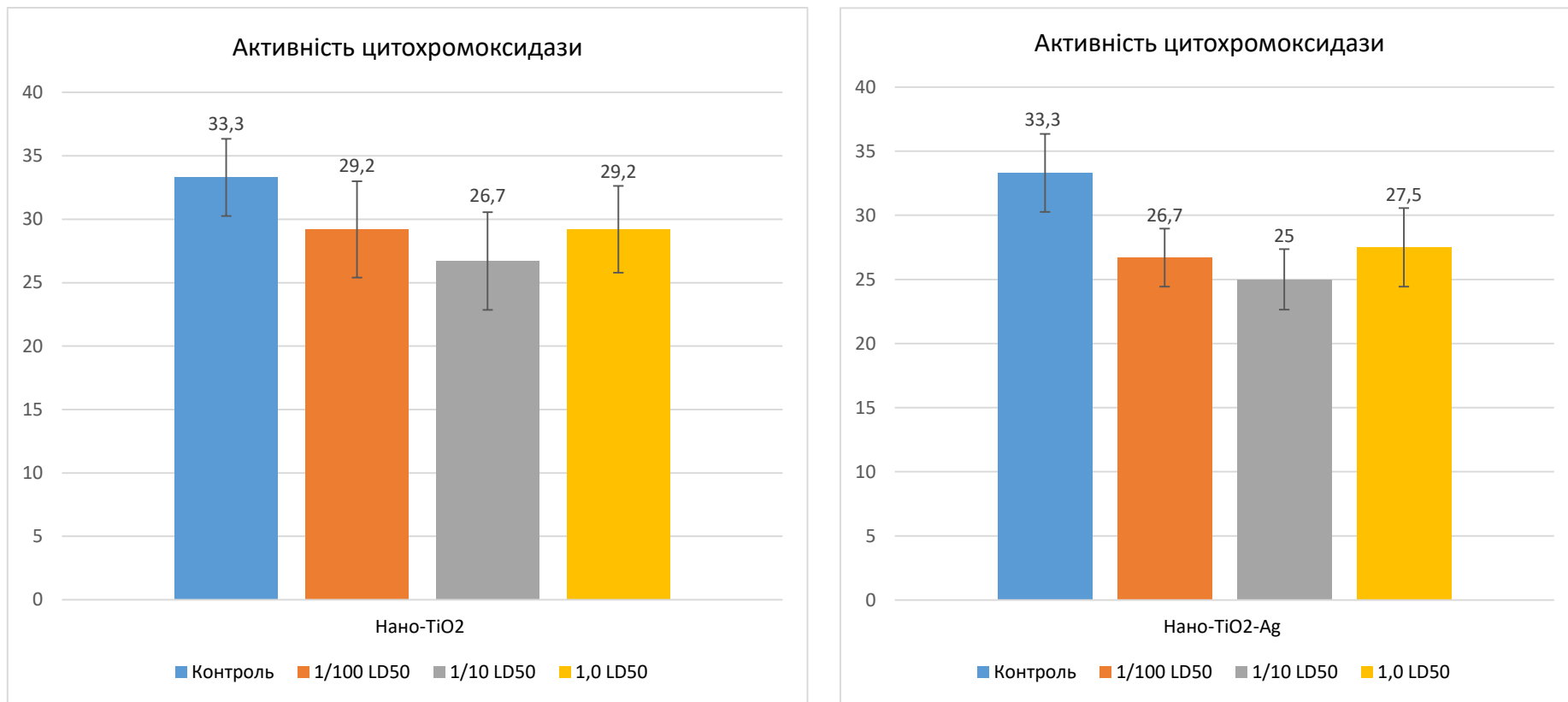


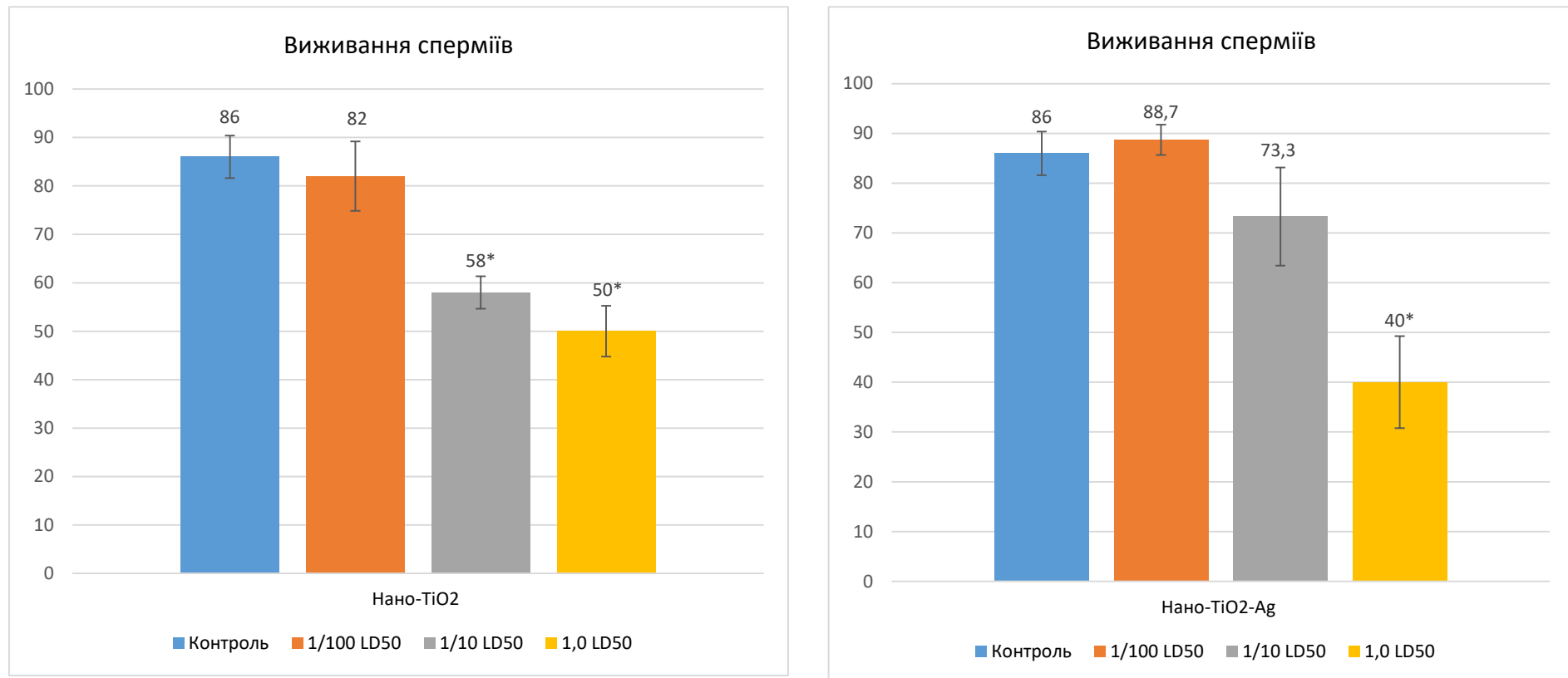
Рисунок 5.22. Активність цитохромоксидази сперміїв за дії наночастинок на основі діоксиду титану (од/год×0,1 мл, n=6, M±m)

Нанопорошки на основі TiO_2 є слаблорозчинні у фосфатно-сольовому буфері і перебувають в середовищі у вигляді суспензії, що може призводити до ушкодження мембран клітин і в подальшому мітохондрій. Внаслідок руйнування мембран (чи збільшення їх проникності) відбувається створення умов для проникнення субстрату (сукцинату) в мітохондрії та активування СДГ. Однак, вплив нанопорошків TiO_2 , що містять срібло (нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$), виглядає дещо інакше, а саме – достовірних змін рівнів СДГ не спостерігається, що може бути зумовлено інгібуванням SH-групи активного центру ензиму йонами срібла (рисунок 5.21). За такої умови нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ вже на рівні $1/100 \text{ LD}_{50}$ інгібують активність ензиму, значення якого за вищих доз вказаних речовин майже не змінюється. Отже, нанопорошок TiO_2 , допований наносріблом, ймовірно, пригнічує активність СДГ.

Наслідком змін окиснювальних процесів, які характеризують ресинтез АТФ у досліджуваних зразках, за дії наночастинок діоксиду титану та його композиту з наносріблом, є зниження фізіологічних характеристик сперміїв, зокрема, їх виживання.

Як видно з рисунка 5.23, обидва нанопорошки в дозі $1/10 \text{ LD}_{50}$ однозначно впливали на величину фізіологічного показника виживання. За додавання нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ виживання знижується з $86,0 \pm 4,39$ до $73,3 \pm 9,87$ год (на 14,8 %). А за додавання нано- TiO_2 – знижується до $58,0 \pm 3,37$ год проти контролю (на 34,6 %; $p < 0,001$). При застосуванні максимальної дози ($1,0 \text{ LD}_{50}$) у всіх зразках виживання сперміїв було вірогідно нижчим ніж у контролі. За дії нано- TiO_2 – знижувалось до $50,0 \pm 5,23$ год (на 41,9 %; $p < 0,001$). За дії нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – знижувалось до $40,0 \pm 9,24$ год (на 53,5 %, $p < 0,001$).

Показники виживання статевих клітин та дози досліджуваних нанопорошків мають середню за силою негативну кореляцію. Кореляційне відношення (η^2) за пропорційно зростаючих доз нано- TiO_2 становить 0,589 і доз нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – $\eta^2 = 0,542$.



Примітка. Різниця статистично вірогідна проти контролю: * – $p < 0,001$.

Рисунок 5.23. Вживання спермійв за дії наночастинок на основі діоксиду титану (год, $n=6$, $M \pm m$)

Отримані нами результати підтверджують дані та розширюють уявлення щодо пошкоджуючого впливу наночастинок на основі діоксиду титану на статеві клітини теплокровних тварин за рахунок оксидативного стресу [140-143].

Отже, нанопорошки діоксиду титану (нано-TiO₂ і нано-TiO₂-Ag), що характеризуються подібною морфологічною характеристикою, починаючи з дози 1/10 LD₅₀, можуть чинити пошкоджуючу дію на статеві клітини кнурів, яка проявляється зниженням дихальної активності сперміїв та збільшенням активності сукцинатдигідрогенази. Найбільш чутливим маркером виявився показник виживання сперміїв, значення якого достовірно знизилось за дії наночастинок TiO₂ в дозі 1/10 LD₅₀, що є наслідком порушення активності мітохондріальних ензимів і, відповідно, ресинтезом АТФ.

Таким чином, сперматозоїди кнурів можуть бути використані в методах *in vitro* на етапах токсиколого-гігієнічної оцінки нових наноматеріалів та хімічних речовин. Одержані експериментальні дані будуть враховані при гігієнічній регламентації досліджених нанопорошків.

Публікації за матеріалами розділу 5 [93,108, 109, 115, 122-125, 144-156].

РОЗДІЛ 6

РОЗРАХУНОК ОБРВ НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ ТА НАНОДІОКСИДУ ТИТАНУ З НАНОСРІБЛОМ В ПОВІТРІ РОБОЧОЇ ЗОНИ; ОЦІНКА РИЗИКУ НЕГАТИВНОГО ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ ОПЕРАТОРА

Для обґрунтування орієнтовно безпечних рівнів впливу (ОБРВ) вмісту наночастинок діоксиду титану (нано- TiO_2) та наночастинок композиту діоксиду титану зі сріблом (нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$) в повітрі робочої зони ми застосовували методичні підходи, викладені в Методичних рекомендаціях «Гігієнічне нормування та контроль наноматеріалів у виробничому середовищі», погоджені т.в.о. головного державного санітарного лікаря України, затверджені Першим віце-президентом НАМН України, 2016 [90].

Методичними рекомендаціями «Гігієнічне нормування та контроль наноматеріалів у виробничому середовищі» ГДК або ОБРВ наноматеріалу може бути встановлена за діючими гігієнічними нормативами, розробленими для речовин, які використовуються у виробництві в звичайній формі (макроформі). Для хімічних речовин, які мають різні фізико-хімічні властивості (наприклад, волокнистої чи неволокнистої природи), відрізняються класом токсичності та характером дії на організм (канцерогени, мутагени, гонадотоксичні речовини (КМГА) запропоновані різні коефіцієнти безпеки від 0,01 до 0,5 при переході від макроформи до наноформи. Так, для нерозчинних чи слабозрозчинних речовин неволокнистої природи та таких, які не відносяться до категорії КМГА, використовується коефіцієнт нанобезпеки 0,066.

Згідно з «Гігієнічними регламентами хімічних речовин у повітрі робочої зони», затверджених наказом МОЗ України № 1596 від 14.07.2020 р. ГДК в повітрі робочої зони для діоксиду титану становить 10 мг/м^3 , срібла металічного 1 мг/м^3 . Таким чином, якщо застосувати вищезазначений підхід, то після проведених розрахунків можна одержати ОБРВ для нано- TiO_2 та нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$:

$$\text{ОБРВ р.з. (нано-}\text{TiO}_2) = 10 \text{ мг/м}^3 \times 0,066 = 0,66 \text{ мг/м}^3;$$

$$\text{ОБРВ р.з. (нано-TiO}_2\text{-Ag)} = 10 \text{ мг/м}^3 \times 0,066 = 0,66 \text{ мг/м}^3.$$

Відповідно до методичних рекомендацій «Гігієнічне нормування та контроль наноматеріалів у виробничому середовищі» величини ОБРВ р.з./ГДК р.з. наноматеріалів металів, їх оксидів та малорозчинних сполук можна розрахувати двома математичними формулами за показниками гострої токсичної дії на моделях *in vivo*, які передбачають використання середньосмертельної дози LD₅₀, молекулярної маси сполуки і кількість атомів металу в сполуці:

$$1. \lg \text{ОБУВ р.з.} = 0,85 \lg \text{LD}_{50} (\text{мА/кг}) - 3,0 + \lg M - \lg N;$$

$$2. \lg \text{ОБУВ р.з.} = 0,664 \lg \text{LD}_{50} (\text{мг/кг}) - 1,59,$$

де LD₅₀ - смертельна доза для 50% мишей при внутрішньоочеревинному введенні та наступному спостереженні протягом двох тижнів, виражена в міліатомах на кілограм маси тіла (мА/кг); M – молекулярна маса сполуки (г/моль), N – кількість атомів металу в молекулі речовини. Для перерахунку дози LD₅₀, вираженої в мг/кг, до мА/кг необхідно величину дози поділити на молекулярну масу сполуки та помножити на кількість атомів металу, що входять у його хімічну формулу (N).

Також, згідно з методичними рекомендаціями «Гігієнічне нормування та контроль наноматеріалів у виробничому середовищі» при екстраполяції лабораторних даних з тварин на людину може вводитися коефіцієнт запасу 100, в якому виділені коефіцієнт екстраполяції – 10 і коефіцієнт індивідуальної чутливості людини, що також дорівнює 10. Однак і в цьому випадку при перенесенні експериментальних даних на людину використовують одну і ту ж стандартну величину, тобто приймається, що чутливість людини завжди на порядок вище чутливості всіх видів експериментальних тварин до дії всіх досліджуваних речовин.

При розрахунку ОБРВ нано-TiO₂ та нано-TiO₂-Ag за величину LD₅₀ нами приймалась величини середньосмертельних доз, розрахованих у власних дослідженнях для нанопорошків TiO₂ LD₅₀ = 4783,30 мг/кг і TiO₂-Ag LD₅₀ = 724,44 мг/кг. За результатами проведених гострих експериментів нано-

TiO₂ та нано-TiO₂-Ag були віднесені до 3 класу небезпечності хімічних речовин. Проведені за вищезазначеними рівняннями розрахунки дозволили одержати наступні значення ОБРВ для досліджуваних нанопорошків.

Із застосуванням вище згаданої методики можна розрахувати величини ОБРВ р.з. для наночастинок діоксиду титану та його композиту зі сріблом.

Розрахунок величини ОБРВ р.з. наночастинок діоксиду титану (M(TiO₂)=79,9 г/Моль). LD₅₀ для НЧ TiO₂ визначена у гострому експерименті на мишах при внутрішньоочеревинному введенні, становить 4783,30 мг/кг = 119,732 мА/кг.

$$1. \lg \text{ОБУВ р.з.} = 0,85 \lg 119,732 - 3,0 + \lg 79,9 - \lg 2 = 0,368$$

$$\text{ОБУВ р.з.} = 2,33 \text{ мг/м}^3$$

$$\text{Із урахуванням коефіцієнту запасу 100 ОБУВ р.з.} = 0,0233 \text{ мг/м}^3$$

$$2. \lg \text{ОБРВ} = 0,664 \lg 4783,30 \text{ (мг/кг)} - 1,59 = 0,8533;$$

$$\text{ОБРВ} = 7,13 \text{ мг/м}^3$$

$$\text{Із урахуванням коефіцієнту запасу 100 ОБУВ р.з.} = 0,0713 \text{ мг/м}^3$$

Розрахунок величини ОБРВ р.з. наночастинок композиту діоксиду титану з сріблом (M(TiO₂)= 79,9 г/Моль). LD₅₀ для НЧ TiO₂-Ag визначена у гострому експерименті на мишах при внутрішньоочеревинному введенні, становить 724,44 мг/кг=18,134 мА/кг.

$$1. \lg \text{ОБУВ р.з.} = 0,85 \lg 18,134 - 3,0 + \lg 79,9 - \lg 2 = - 0,32876$$

$$\text{ОБУВ р.з.} = 0,4691 \text{ мг/м}^3$$

$$\text{Із урахуванням коефіцієнту запасу 100 ОБУВ р.з.} = 0,004691 \text{ мг/м}^3$$

$$2. \lg \text{ОБРВ} = 0,664 \lg 724,44 \text{ (мг/кг)} - 1,59 = 0,309;$$

$$\text{ОБРВ} = 2,037 \text{ мг/м}^3$$

$$\text{Із урахуванням коефіцієнту запасу 100 ОБУВ р.з.} = 0,02037 \text{ мг/м}^3$$

Таким чином, визначені нами за вищевказаними підходами ОБРВ р.з. становлять – для нанодіоксиду титану: ОБРВ р.з. = 0,66 мг/м³; ОБУВ р.з. = 0,0713 мг/м³; ОБУВ р.з. = 0,0233 мг/м³; для нанодіоксиду титану з наносріблом: ОБРВ р.з. = 0,66 мг/м³; ОБУВ р.з. = 0,02037 мг/м³; ОБУВ р.з. = 0,004691 мг/м³.

Ми пропонуємо визначити, як ОБРВ р.з. середню величину, одержану з трьох математичних рівнянь, застосованих для кожного нанопорошку: для нано- TiO_2 – 0,3 мг/м³ а для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – 0,2 мг/м³.

З позицій кількісної токсикології обидва запропоновані нормативи є, в певній мірі, наближеними, однак, їх уточнення потребує постановки додаткових подальших досліджень.

Варто зазначити, що Національний інститут професійної безпеки та здоров'я США (National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH) встановив ОБРВ для наночастинок діоксиду титану на рівні 0,3 мг/м³. Запропоновані нами значення ОБРВ є наближеними до нормативу NIOSH для діоксиду титану.

На підставі власних досліджень і даних літератури щодо токсичності наночастинок діоксиду титану нами було розраховано індекс токсичності (таблиця 6.1). За сумою балів індекс токсичності становить 33,75 балів.

Таблиця 6.1. Розрахунок індексу токсичності наночастинок діоксиду титану

Відомості щодо токсичності	Низька, бал	Середня, бал	Невідома, бал	Висока, бал
Форма наночастинок	0, якщо сферична чи компактна	5, якщо різна форма	7,5	10, якщо трубчаста або волокниста
Діаметр частинок	0, якщо 40-100 нм	5, якщо 11-40 нм	7,5	10, якщо 1-10 нм
Розчинність наночастинок		5, розчинні	7,5	10, нерозчинні
Канцерогенність наночастинок	0, неканцероген		5,625	7,5 потенційний
Репродуктивна токсичність наночастинок	0, немає ризику		5,625	7,5, з ризиком
Мутагенність наночастинок	0, ні		5,625	7,5, так
Дермальна токсичність наночастинок	0, нетоксична		5,625	7,5 токсична до шкіри

Токсичність «батьківського» матеріалу*	2,5, якщо ГДК 11-100 мкг/м ³	5, якщо ГДК 2-10 мкг/м ³	7,5	10, якщо ГДК 0-1 мкг/м ³
Канцерогенність «батьківського» матеріалу	0, неканцероген		3,75	5, канцероген
Репродуктивна токсичність «батьківського» матеріалу	0, нетоксична		3,75	5, токсична
Мутагенність «батьківського» матеріалу	0, ні		3,75	5, так
Дермальна токсичність «батьківського» матеріалу	0, ні		3,75	5, так
Сума балів:	33,75			

Примітка. * — 0 балів, якщо ГДК більше ніж 100 мікрограм/м³; напівжирним шрифтом виділені показники, характерні для НЧ діоксиду титану

На наступному етапі оцінки ризику було використані відомості щодо організації виробничого процесу та охарактеризовано експозицію під час виробництва нанопорошку діоксиду титану. Даний показник склав 68,75 балів (таблиця 6.2).

Таблиця 6.2. Розрахунок оцінки експозиції наночастинками діоксиду титану

	Низька, бал	Середня, бал	Невідома, бал	Висока, бал
Оцінка кількості наноматеріалів, що використовуються під час завдання	6,25, якщо <10 мг	12,5, якщо 11-100 мг	18,75	25, якщо >100 мг
Запиленість*	7,5	15	22,5	30

Кількість працюючих з однаковою експозицією**	5, якщо 6-10	10, якщо 11-15	11,25	15, якщо >15
Частота операції	5, якщо менше ніж щомісячно	10, якщо тижнево	11,25	15, якщо щоденно
Час операції***	5, якщо 30-60 хвилин	10, якщо 1-4 години	11,25	15, якщо > 4 годин
Сума балів:	68,75			

Примітка: *— Рівень запиленості бажано оцінювати за допомогою лічильників, знаючи про процес, шляхом спостереження поверхні забруднення та стану наночастинок (порошок чи суспензія); ** — 0 балів, якщо 5 працюючих або менше; *** — 0 балів, якщо менше 30 хвилин; напівжирним шрифтом виділені показники, характерні для НЧ діоксиду титану

Останнім етапом оцінки ризику було використання «матриці смуг контролю», за допомогою якої можна запропонувати ті чи інші інженерні чи управлінські заходи щодо зниження ризику (таблиця 6.3). Відповідно до розрахункових значень індексу токсичності та оцінки експозиції було отримано показник рівня ризику, який дорівнює величині 2. Це означає що умови праці на робочому місці оператора синтезу нанокристалічного діоксиду титану мають передбачати використання витяжних шаф або місцевої витяжної вентиляції.

Таблиця 6.3. Матриця смуг контролю в залежності від токсичності та експозиції наночастинок діоксиду титану

Експозиція	Вкрай малоймовірно (0-25)	Менш ймовірно (26-50)	Ймовірно (51-75)	Більш ймовірно (76-100)
Токсичність				
Дуже висока (76-100)	СК 3	СК 3	СК4	СК 4
Висока (51-75)	СК 2	СК 2	СК 3	СК 4
Середня	СК 1	СК 1	СК 2	СК 3

(26-50)				
Низька (0-25)	СК 1	СК 1	СК 1	СК 2

Примітка:

Смуги контролю (рівні ризику):

СК 1 — Загальна вентиляція;

СК 2 — Витяжні шафи або місцева витяжна вентиляція;

СК 3 — Ізоляція та обмеження;

СК 4 — Консультація фахівця;

Напівжирним шрифтом виділені показники, характерні для НЧ діоксиду титану.

Проведені нами розрахунки дозволили кількісно охарактеризувати індекси токсичності та експозиції для нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$. Розрахований нами індекс токсичності для обох нанопорошків становив 33,75 балів та індекс експозиції для обох нанопорошків становив 68,75 балів. На підставі одержаної кількості балів індексів токсичності і експозиції визначалась смуга контролю.

Матриця смуги контролю має дві системи координат і чотири градації в кожній координаті: по токсичності від 100 до 0 балів і по експозиції від 0 до 100 балів. Координата токсичності поділяється на дуже високо, високу, середню і низьку. Координата по експозиції поділяється на вкрай малоїмовірну, менш ймовірну, ймовірну і більш ймовірну.

Одержані нами дані для обох нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ відповідають середній токсичності і ймовірній експозиції. Ці значення токсичності та експозиції дозволяють визначити смугу контролю на перехресті координат, яка становить СК 2 для обох нанопорошків.

Враховуючи наведене можна зробити висновок, що робота оператора багатосекційної обертової печі відповідає рівню середнього ризику та не потребує застосування спеціальних заходів щодо керування ним (заміна способу обробки матеріалу, обмеження часу знаходження персоналу в приміщенні тощо). У той же час, обов'язковою є ефективна система місцевої вентиляції та

використання спецодягу. Контроль за концентрацією нанорозмірного діоксиду титану рекомендовано проводити 1 раз у квартал (при встановленій відповідності вмісту шкідливих речовин III, IV класів небезпеки рівню ГДК/ОБРВ допускається проводити контроль не рідше 1 разу на рік).

Публікації за матеріалами розділу 6 [115].

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ПРОВЕДЕНИХ ГІГІЄНИЧНИХ І ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Матеріали, що представлені частинками нанометрового діапазону, набувають принципово нових властивостей, відмінних від макроформи такої ж за хімічним складом речовини: особливих спектральних, оптичних, електричних, магнітних, хімічних, біологічних корисних властивостей. Це обумовлює їх широке використання в мікроелектроніці, оптиці, енергетиці, хімічних технологіях, медицині, біології, тощо.

Узагальнюючи результати проведених нами дослідження щодо порівняльної токсиколого-гігієнічної оцінки нанопорошків діоксиду титану і композиту діоксиду титану з сріблом, можна стверджувати що дисертаційна робота націлена на вирішення актуальної проблеми безпеки виробництва і використання наночастинок для здоров'я людини. Дисертаційна робота спрямовувалась на оцінку безпеки нових наноматеріалів, які є перспективними в застосуванні як у промисловості, сільському господарстві так і в біології та медичній галузі, завдяки їх унікальним властивостям, пов'язаним з нанорозмірністю, такими як фотокаталітичні, антимікробні тощо.

Вважається, що потенційна небезпека наноматеріалів для здоров'я людини визначається основними їх фізико-хімічними характеристиками: нерозчинністю у воді та біологічних рідинах, здатністю утворювати наносуспензії, зарядом частинки, адсорбційною ємкістю, стійкістю до агрегації, гідрофобністю, адгезією до поверхонь, здатністю до генерації вільних радикалів та іншими. Відсутність ґрунтовних знань щодо ступеня токсичності наноматеріалів та їх потенційної небезпеки для організму людини вимагає проведення відповідних гігієнічних, токсикологічних, медичних і біологічних досліджень.

Варто зауважити, що токсиколого-гігієнічна оцінка нано- TiO_2 та нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ здійснювалась на етапі дослідного виробництва. Це є випередженням до виробництва наноматеріалів в промисловому масштабі і дозволяє надати

рекомендації та зауваження в безпеці виробництва і використання наноматеріалів, що можуть бути враховані на етапі планування і проектування промислового виробництва наноматеріалів.

За мету дисертаційного дослідження ми ставили вивчення особливостей токсичного впливу нанопорошків TiO_2 та $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ в експерименті на лабораторних тваринах, моделях *in vitro* для наукового обґрунтування заходів профілактики їх можливої несприятливої дії на організм операторів синтезу, зокрема, визначення орієнтовно безпечних рівнів впливу цих наноматеріалів в повітрі робочої зони.

Як зазначалось вище в розділі 3, нанопорошки TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ одержують в Інституті проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича НАН України оригінальним методом термічного розкладу метатитанової кислоти, при нагріванні до температури $600\text{ }^\circ\text{C}$ в багатосекційній обертовій печі, з додаванням нітрату срібла 4 мас. % (для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$).

Результати проведених гігієнічних досліджень умов праці оператора синтезу нанопорошків діоксиду титану, виконаних на дослідній установці Інституту проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича НАН України, свідчать, що технологічний процес характеризується рядом виробничих особливостей: переривчастістю технологічного процесу, ручними операціями, наявністю джерел нагрівання, що призводить, зокрема, до виділення у повітря робочої зони пилу сировини і ультра-, наночастинок діоксиду титану.

Вперше проведена нами оцінка вмісту титану в повітрі робочої зони з застосуванням методу оптико-емісійної спектроскопії, дозволила встановити, що концентрація титану на різних етапах синтезу нанопорошку діоксиду титану становила від $0,13\text{ мкг/м}^3$ до $3,3\text{ мкг/м}^3$ і не перевищувала ГДК титану (10 мкг/м^3). Це дозволило віднести умови праці оператора за хімічним фактором до 2 класу (допустимого) за Гігієнічною класифікацією праці.

Для виявлення фракцій ультра- і наночастинок, нами було розроблено спеціальний метод, який дозволяв стабілізувати і утримувати наночастинок в завислому стані у глюкозо-цитратному буфері при відборі проб повітря у робочій

зоні та при подальших аналітичних дослідженнях. На «Спосіб стабілізації нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером» нами отримано патент на корисну модель №148325.

Подальше застосування методу лазерної гранулометрії дозволило нам виявити фракції ультрамікроскопічних і нанорозмірних частинок діоксиду титану з домінуванням фракцій від 19,5 нм до 38,91 нм в процесі синтезу нанопорошку TiO_2 на робочому місці оператора біля пульта керування. Встановлена нами наявність ультрамікроскопічних і нанорозмірних частинок діоксиду титану в повітрі робочої зони свідчить про те, що вони створюють певний ризик для оператора. Проте цей ризик не може бути остаточно оцінений, оскільки науково обґрунтований норматив для таких наночастинок на сьогодні не розроблений в Україні. Це послугувало передумовою для подальшої розробки ОБРВ вмісту наночастинок TiO_2 та $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ у повітрі робочої зони.

Проведена нами гігієнічна оцінка супутніх фізичних факторів (виробничого мікроклімату, шуму та освітленості) на робочому місці оператора дозволила встановити, що вони відповідали допустимим значенням Гігієнічної класифікації праці за додатками 5, 6, 7, 14. Це дозволило віднести умови праці оператора за фізичними факторами до класу 2 (допустимий) умов праці за Гігієнічною класифікацією праці.

За визначними провідними шкідливими чинниками фізичної та хімічної природи при виробництві наноматеріалів різними технологіями, наші дослідження узгоджуються з даними літератури [12, 13, 15, 16, 35, 40, 58, 85-88, 91, 92, 111, 112].

Гігієнічна оцінка важкості і напруженості праці оператора дозволила встановити наступне. Важкість праці оператора синтезу нанопорошків діоксиду титану відповідає класу 2 (допустимий, середньої важкості), а напруженість праці – класу 3.1 (шкідливий 1 ступеня, напружена праця) за показником емоційного навантаження (ступінь відповідальності за результат своєї діяльності, значущість помилки). Висока напруженість праці оператора синтезу нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ обумовлена його відповідальністю за функціональну

якість основного завдання і внаслідок його можливої помилки, її виправлення потребуватиме додаткових зусиль всієї робочої групи.

Одержані нами дані щодо тяжкості і напруженості праці операторів синтезу нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ цілком узгоджуються з результатами фізіолого-гігієнічних досліджень інших авторів [16, 35, 85, 86, 111, 112], які довели, що одержання наноматеріалів титанату барію, нітриду титану, силіцидів металів, срібла і т.д. з застосуванням технологій термічного синтезу, високоенергетичної механоактивації, електронно-променевої і т.д, також, вимагають напруженої праці оператора класу 3.1 (шкідливий 1 ступеня, напружена праця).

Застосування просвічуючої і скануючої електронних мікроскопій, дозволило встановити, що нанопорошок TiO_2 складається з наночастинок переважно розміром від 20 нм до 30 нм, схильних до агрегації. Дослідження нанокompозиту $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ показало, що срібло локалізується на поверхні діоксиду титану, утворюючи «кулько-подібні» часточки срібла. Середні розміри наночастинок TiO_2 в композитному матеріалі становили від 13 нм до 20 нм, а Ag – від 35 нм до 40 нм.

За результатами застосування спектральних і оптичних методів аналізу (РФА, ІЧ, КРС) встановлена кристалічна структура, підтверджені розміри частинок, досліджена поверхнева структура, функціональні групи, дефекти та інші характеристики нано- TiO_2 та нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$. Зокрема, підтверджена кристалічна модифікація нанопорошків TiO_2 та $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ (анатаз, без домішок рутилу). На поверхні наночастинок TiO_2 та $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ виявлені дефекти – вакансії кисню, надлишкові електрони й дірки, поверхневі гідроксильні групи. Спектральний аналіз довів фізико-хімічну взаємодію між Ag та напівпровідником TiO_2 , яка утримує частинки наносрібла на поверхні металооксиду. Виявлені поверхні дефекти синтезованого нано- TiO_2 , на нашу думку, можуть виступати як активні центри, що надають можливість модифікувати наночастинками металу (Ag) для поліпшення адсорбційних, антимікробних, фотокаталітичних властивостей композиту в цілому.

В експерименті на лабораторних тваринах вперше встановлені і розраховані середньосмертельні дози досліджуваних нанопорошків з застосуванням методу пробіт-аналізу. Для нано- TiO_2 середньосмертельна доза становила 4783,30 мг/кг та для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – 724,44 мг/кг. За класифікацією токсичності речовин при введенні тваринам внутрішньоочеревинно (Сидорова К.К., 1973 р.) нанопорошок TiO_2 відповідає класу VI (відносно нетоксичні), а нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – класу IV (мало токсичні). За перерахованими на внутрішньошлункове введення середньосмертельними дозами нано- TiO_2 відповідає 4-му класу (малонебезпечні) небезпечності хімічних речовин, а нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ відноситься до 3-го класу (помірно небезпечні) за класифікацією небезпечності хімічних речовин у повітрі робочої зони наведеною в наказі МОЗ України № 1596 від 14.07.2020 року «Гігієнічні регламенти хімічних речовин у повітрі робочої зони».

Кумулятивну дію нано- TiO_2 вивчали за методом Lim et al. Дослідній групі щурів внутрішньошлунково вводився нанодіоксид титану за методикою Lim, починаючи з $1/10 \text{ LD}_{50}$ з підвищенням дози у 1,5 рази на кожний п'ятий день протягом 28 діб з отриманням сумарної дози 76040 мг/кг. Летальність у щурів не спостерігалась, що вказує на низькі кумулятивні властивості. Але у дослідній групі щурів спостерігалось зниження динаміки зростання маси у порівнянні з контрольною групою.

За результатами наших досліджень з нанесенням нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на шкіру морських свинок і внесенням їх в кон'юнктивальний мішок слизової ока кроля, встановлено, що нанопорошки TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ не подразнюють шкіру і чинять слабку подразнюючу дію на слизову ока.

Результати досліджень Солохи Н.В. і співавторів щодо гострої токсичності нанопорошків дисиліциду хрому і нітриду титану дозволили віднести їй ці речовини до 4 класу небезпечності (малонебезпечні) хімічних речовин і встановити, що вони чинять слабковиражену подразнюючу дію на слизову ока кроля і не подразнюють шкіру. Наші дослідження щодо встановленого 4 класу небезпечності хімічних речовин для нано- TiO_2 збігаються з результатами

Солохи Н.В. для нанопорошків дисиліциду хрому і нітриду титану, і мають близьку за характером дії подразнюючу дію на слизову ока.

В гострому експерименті встановлені розподіл і накопичення нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ в цільній крові, тканинах печінки, нирок, селезінки, серця, легень, мозку, тимусі та наднирників лабораторних щурів і мишей. Найвищий вміст титану виявлялося в цільній крові щурів. В убуючому порядку титановмісні наночастинки виявлені в печінці, нирках, селезінці і тимусі, хоча достовірної залежності від дози при введенні нано- TiO_2 чи нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ не було виявлено. Особливим було і виявлення накопичення вмісту титану у тимусі та наднирниках, що може свідчити про токсичну дію наночастинок на ендокринну та імунну системи.

Після одноразового внутрішньоочеревинного введення високих доз від 4000 мг/кг до 10000 мг/кг досліджуваних металовмісних наночастинок органами з найвищим накопиченням наночастинок TiO_2 та нанокompозиту $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ виявилися нирки, печінка, селезінка і легені у мишей.

Слід відзначити, що наявність титану та срібла у внутрішніх органах щурів і мишей після одноразового введення високих доз нанопорошків відзначалось навіть на 14 добу спостережень. Їх вміст залишається високим, залежав від дози, найбільш чутливими органами до утримання металів виявились нирки, печінка, селезінка, тимус та наднирники.

Отримані нами результати щодо розподілу наночастинок діоксиду титану досліджень кореспондують з даними, наведеними в науковій літературі [127-133]. Так, автори [133] вказують на те, що тривалий вплив нано- TiO_2 здатний призводити до накопичення у внутрішніх органах, насамперед селезінці, печінці, нирках, чинити оксидативний стрес, впливати на клітинний імунітет, порушувати баланс макро- та мікроелементів (Cu, K, Zn) [127-132]. Є свідчення стосовно того [130], що нано- TiO_2 можуть виступати в ролі ендокринних дизрапторів, спричиняти генотоксичну дію на нейроглію мозку. Відомо також, що інгаляційне, перкутанне або пероральне надходження нано- TiO_2 призводить

до накопичення їх у легенях, травному каналі, печінці та інших органах [134-135].

Гістологічними методами встановлені особливості проявів патологічних змін у структурній організації тканин печінки, нирок і легень мишей після одноразового внутрішньоочеревинного введення нанопорошків TiO_2 і TiO_2-Ag у дозах 4000 мг/кг, 7000 мг/кг, 10000 мг/кг у порівнянні з контрольними тваринами.

Найбільш характерними морфологічними ознаками токсичної дії нано- TiO_2 на тканину печінки виявились дистрофічні зміни на рівні 67,7 % (цитоплазматична вакуолізація в гепатоцитах), а при впливі нано- TiO_2-Ag – початкові некротичні зміни на рівні 70 % (гепатоцити з пікнозом ядер). Варто відмітити, що токсична дія нано- TiO_2 і нано- TiO_2-Ag значно рідше проявлялась фокальними некрозами і запальними реакціями (фокальна інфільтрація), в окремих випадках траплялись адаптаційні зміни, що проявлялись збільшенням кількості біноуклеарних гепатоцитів.

Алексійчук В.Д. та інші, досліджуючи хронічний токсичний вплив наночастинок свинцю на щурах, відзначали морфологічні ознаки дистрофічних змін у гепатоцитах [41-44]. Переважання дистрофічних морфологічних змін у печінці, в цілому узгоджується з результатами наших досліджень щодо гострого впливу нано- TiO_2 .

Структурними проявами токсичної дії на тканину нирок нано- TiO_2 та нано- TiO_2-Ag були збільшення сечового просвіту у ниркових тільцях, дистрофічні зміни епітелію каналців різного ступеня (від набряку епітелію до некрозу і руйнації каналців). Стінка ниркового тільця і судинний клубочок, як правило, були збереженими, у просвіті мікросудин виявлено формені елементи крові (еритроцити).

При дослідженні гістологічної будови легень увагу було зосереджено на стані структурних елементів бронхіального дерева та альвелярних ацинусів. Відмічено загальні, спільні, і неспецифічні морфологічні ознаки ураження тканини легень після внутрішньоочеревинного введення нанопорошків. Майже

в усіх досліджених зразках виявлено ознаки геморагічного просочення респіраторного відділу різного рівня. Реєстрували як вогнищеві осередки крововиливів, так і тотальне ураження тканини легень. Структурна цілісність великих судин (артерій та вен) залишалась збереженою. Ймовірно, ураження та відповідні структурні зміни зазнали саме мікросудини респіраторного відділу легень. Також у досліджених зразках виявлено ураження епітеліальної пластинки слизової оболонки бронхів. Характерним проявом цих змін були: некроз епітеліоцитів, десквамація епітелію, рідше ознаки гіперсекреції слизового секрету. У просвіті великих та середніх бронхів реєстрували клітинний детрит, секрет, епітеліоцити. Як правило, такі зміни були дифузними. При цьому ознак розвитку запальних змін у респіраторному відділі легень не виявлено.

За результатами гістологічних досліджень зроблено висновок про те, однократне внутрішньоочеревинне введення нанопорошків не позначилось на загальноморфологічній організації головного мозку, серця і селезінки мишей.

Для достовірного підтвердження накопичення нано- TiO_2 у печінці лабораторних тварин після внутрішньоочеревинного введення нанопорошків TiO_2 було застосовано метод скануючої електронної мікроскопії (SEM) з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією (EDX). Це дало можливість встановити наявність титану у кристалічних включеннях у органі і провести морфометричний аналіз (розмір) агломератів. У зразках печінки було виявлено агломерати чужорідного матеріалу (кристалічні включення), які були досліджені спектрально та показали високий вміст титану (Ti).

Таким чином, поєднане застосування методу SEM та енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії дало можливість достовірно встановити наявність титану у неорганічних включеннях у печінці. Це доводить, що поява кристалічних включень на рівні капсули органу (печінка) і у паренхімі пов'язано з внутрішньоочеревинним введенням нано- TiO_2 .

Вплив досліджуваних нанопорошків на імунну систему вивчений в експериментах в умовах *in vitro*. Встановлено, що наноматеріали у концентраціях 30 мкг/мл нано- TiO_2 -Ag здатні підвищувати функціональну

активність мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією прозапальних цитокінів IL-1, IL-6, TNF- α та продукцію IL-4 у донорів ($p < 0,05$), що свідчить про можливий потенційний вплив на формування хронічного запалення та алергічних реакцій у відповідній категорії працівників нановиробництва. Під впливом наноматеріалу у концентрації 30 мкг/мл нано-TiO₂ на мононуклеарні клітини периферичної крові спостерігаємо статистично значиме збільшення продукції IL-1 ($p < 0,01$), а продукція IL-6, TNF- α , IL-4 не є статистично значимою в порівнянні із спонтанною продукцією. Функціональна активність мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією цитокінів (IL-1, IL-6, TNF- α , IL-4) зростає більш інтенсивно під впливом нано-TiO₂-Ag ніж нано-TiO₂, що свідчить про відносно більшу потенційну небезпеку імунотоксичності нано-TiO₂-Ag для працівників, що працюють у відповідних умовах виробництва наноматеріалів.

В дослідженнях інших авторів [24, 138, 139], що вивчали вплив наноматеріалів діоксиду титану і нітриду титану на імунну систему за продукцією цитокінів, також, спостерігалось підвищення IL-1, TNF- α , IL-6 і IL-4. В експерименті на мишах, які зазнали впливу нано-TiO₂, авторами було підтверджено, посилення запальних реакції, порушення імунного балансу, підвищення сприйнятливості до бактеріальної інфекції [139]. Дослідження авторів *in vivo* [139], підтверджує отримані нами результати впливу нанопорошків TiO₂ і TiO₂-Ag на імунну систему *in vitro*, але вже на організменному рівні.

При дослідженні впливу нанопорошків TiO₂ і TiO₂-Ag на статеві клітини кнурів з метою виявлення їх гонадотоксичної дії та пошуку альтернативних моделей *in vitro* для оцінки токсичності нових матеріалів. Встановлено, що нанопорошки діоксиду титану (нано-TiO₂ і нано-TiO₂-Ag), починаючи з дози 1/10 LD₅₀, можуть чинити пошкоджуючу дію на статеві клітини кнурів. Вона проявляється зниженням дихальної активності сперміїв та збільшенням активності сукцинатдигідрогенази. Найбільш чутливим маркером виявився показник виживання сперміїв, значення якого достовірно знизилось за дії

наночастинок TiO_2 в дозі $1/10 \text{ LD}_{50}$, що є наслідком порушенням активності мітохондріальних ензимів і, відповідно, ресинтезом АТФ.

Демецькою О.В. та іншими було встановлено, що нанокompозит $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ та нано- TiO_2 у концентраціях 3 мг/мл ініціюють патологічні зміни у сперматозоїдах великої рогатої худоби (бика), що є маркерами оксидативного стресу (аномалії головки, середньої частини та хвоста, а також відсутність акросоми тощо), при цьому патологічна дія нанокompозиту $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ є більш вираженою [142, 143].

Таким чином, сперматозоїди кнурів можуть бути використані в методах *in vitro* на етапах токсиколого-гігієнічної оцінки нових наноматеріалів та хімічних речовин. Нами було отримано патент на корисну модель «Спосіб оцінки токсичності наноматеріалів з використанням як тест-об'єкт сперматозоїдів кнурів *in vitro*» та видано методичні рекомендації «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*».

Виходячи з величин встановлених нами LD_{50} для мишей шляхом внутрішньоочеревинного введення, нами були вперше розраховані ОБРВ для нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$. Відповідно до методичних рекомендацій «Гігієнічне нормування та контроль наноматеріалів у виробничому середовищі» ці ОБРВ р.з. розраховали за трьома варіантами математичних формул, які передбачають використання середньосмертельної дози, молекулярної маси сполуки, кількості атомів металу в сполуці та із застосуванням запропонованих цим документом відповідних коефіцієнтів нанобезпеки і запасу. ОБРВ р.з. визначалась нами як середня величина, одержана з трьох математичних рівнянь, застосованих для кожного нанопорошку. Ці ОБРВ для нано- TiO_2 становлять $0,3 \text{ мг/м}^3$ а для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – $0,2 \text{ мг/м}^3$. Варто зазначити, що Національним інститутом професійної безпеки та здоров'я США (National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH) встановлена ОБРВ для наночастинок діоксиду титану на рівні $0,3 \text{ мг/м}^3$. Таким чином, запропоновані нами значення ОБРВ для нано- TiO_2 для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ є близькими до нормативу NIOSH.

Наступний етап наших досліджень полягав в оцінці ризику можливого негативного впливу нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на робочому місці оператора синтезу. Можливий ризик і захисні засоби визначалися за методикою запропонованою Zalk (2009) [157], модифікованою О.В. Демецькою (2018) [12]. Відповідно до цієї методики нами розраховувались індекси токсичності та експозиції (в балах) з наступним визначенням смуг характеру контролю і забезпечення безпеки з врахуванням токсичності нанопорошків і тривалості експозиції ними.

Індекс токсичності розраховувався за такими параметрами: формою наночастинок, діаметром наночастинок, розчинності наночастинок, канцерогенності наночастинок, репродуктивної токсичності наночастинок, мутагенності наночастинок, дермальної токсичності наночастинок, токсичності «батьківського матеріалу» (TiO_2 в макроформі), канцерогенності «батьківського матеріалу», репродуктивної токсичності «батьківського матеріалу», мутагенності «батьківського матеріалу» і дермальної токсичності «батьківського матеріалу».

Оцінка експозиції проводилась за показниками: оцінки кількості наноматеріалів, що використовуються під час завдання; запиленості; кількості працюючих з однаковою експозицією; частотою операцій і тривалості операції. Відповідно до методики за цими показниками токсичність та експозиція може бути низькою, середньою, невідомою або високою.

Далі за індексами токсичності та експозиції нами визначалась смуга контролю (СК), яка передбачає використання тих чи інших заходів захисту працівника: СК 1 – загальна вентиляція, СК 2 – витяжні шафи або місцева витяжна вентиляція, СК 3 – ізоляція та обмеження, СК 4 – консультація фахівця.

Проведені нами розрахунки дозволили кількісно охарактеризувати індекси токсичності та експозиції для нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$. Розрахований нами індекс токсичності для обох нанопорошків становив 33,75 балів та індекс експозиції для обох нанопорошків становив 68,75 балів. На підставі одержаної кількості балів індексів токсичності і експозиції визначалась смуга контролю.

Матриця смуги контролю має дві системи координат і чотири градації в кожній координаті: по токсичності від 100 до 0 балів і по експозиції від 0 до 100 балів. Координата токсичності поділяється на дуже високу, високу, середню і низьку. Координата по експозиції поділяється на вкрай малоїмовірну, менш ймовірну, ймовірну і більш ймовірну.

Одержані нами дані для обох нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ відповідають середній токсичності і ймовірній експозиції. Ці значення токсичності та експозиції дозволяють визначити смугу контролю на перехресті координат, яка становить СК 2 для обох нанопорошків.

Визначений за відповідними координатами рівень ризику означає, що на робочому місці оператора синтезу має облаштовуватись такий захисний захід як використання витяжних шаф, місцевої витяжної вентиляції. Відповідно до рекомендації застосованого методичного підходу контроль за концентрацією нанорозмірного TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ рекомендовано проводити 1 раз у квартал (при встановленій відповідності вмісту шкідливих речовин III, IV класів небезпеки рівню ГДК/ОБРВ допускається проводити контроль не рідше 1 разу на рік).

Публікації за матеріалами розділу 7 [115].

ВИСНОВКИ

В дисертації наведено вирішення актуальної наукової проблеми гігієни праці – профілактики несприятливої дії нанопорошків діоксиду титану та нанокompозиту діоксиду титану з сріблом на здоров'я операторів їх синтезу. Вивчено умови праці операторів багатосекційної обертової печі та ідентифіковано наночастинки діоксиду титану в повітрі робочої зони. Досліджено, в експериментах на лабораторних тваринах та моделях *in vitro*, особливості і характер загальнотоксичної дії нано-TiO₂ і нано-TiO₂-Ag, а також їх впливу на імунну систему та на статеві клітини кнурів. На основі проведених гігієнічних та експериментальних досліджень розроблені профілактичні рекомендації щодо попередження несприятливої дії нанопорошків TiO₂ і TiO₂-Ag на організм операторів синтезу, зокрема запропоновано їх ОБРВ в повітрі робочої зони, дана кількісна оцінка ризику впливу наноаерозоллю на організм операторів.

1. Встановлено, що специфічним і потенційно небезпечним чинником в процесі виготовлення нанопорошків TiO₂ і TiO₂-Ag методом термічного розкладу метатитанової кислоти в багатосекційній обертовій печі є аерозоль ультра- і наночастинок діоксиду титану, що виявлені з застосуванням методу лазерної гранулометрії в процесі синтезу нанопорошку TiO₂ на робочому місці оператора біля пульта керування з домінуванням фракції розмірами від 19,5 нм до 38,91 нм; методом оптико-емісійної спектроскопії встановлено вміст титану в повітрі робочої зони від 0,13 до 3,3 мкг/м³.

2. Робота оператора синтезу згідно з критеріями Гігієнічної класифікації праці за показниками шкідливості та небезпечності факторів виробничого середовища (мікроклімат, шум, освітленість) відповідає класу 2 (допустимий), за важкістю відповідає класу 2 (допустимий, середньої важкості), за напруженістю – класу 3.1 (шкідливий, 1 ступеня, напружена праця). За вмістом наноаерозоллю шкідливість праці не оцінювалась через відсутність встановленого для цих нанопорошків гігієнічного нормативу.

3. Показано, що нанопорошок TiO_2 складається з наночастинок розміром від 20 нм до 30 нм, схильних до агрегації; наноккомпозит $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ складається з наночастинок TiO_2 розміром від 13 нм до 20 нм і Ag – від 35 нм до 40 нм, срібло локалізується на поверхні діоксиду титану; для обох нанопорошків доведена анатазна кристалічна структура; відзначена розвинена поверхнева структура з мезопорами і питомою поверхнею для нано- TiO_2 – 50,84 м²/г, для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – 50,11 м²/г; виявлені поверхневі дефекти на наночастинках – вакансії кисню, надлишкові електрони, дірки, гідроксильні і функціональні групи; доведено фізико-хімічну взаємодію між Ag та TiO_2 в наноккомпозиті.

4. Вперше встановлена середньосмертельна доза для нано- TiO_2 на рівні 4783,30 мг/кг і для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – 724,44 мг/кг. За класифікацією токсичності речовин при введенні тваринам внутрішньоочеревинно (Сидорова К.К., 1973 р.) нанопорошок TiO_2 відповідає класу VI (відносно нетоксичні), а нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – класу IV (мало токсичні). За величинами перерахованих на внутрішньошлункове введення середньосмертельних доз нано- TiO_2 відповідає 4-му класу (малонебезпечні) небезпечності хімічних речовин, а нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ відноситься до 3-го класу (помірно небезпечні) за класифікацією небезпечності хімічних речовин у повітрі робочої зони, наведеною в документі «Гігієнічні регламенти хімічних речовин у повітрі робочої зони», затвердженому наказом МОЗ України № 1596 від 14.07.2020 року.

Нанопорошки TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ не подразнюють шкіру і чинять слабку подразнюючу дію на слизову ока; можуть спричиняти слабку виражену сенсibilізаційну дію. Встановлено, що нанопорошок TiO_2 має слабковиражені кумулятивні властивості.

5. Доведено, що при внутрішньоочеревинному введенні нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ шурам, титан виявлявся в цільній крові і далі розподілявся у внутрішніх органах в убуваючих кількостях: в печінці, нирках, селезінці, легенях, тимусі і наднирниках. Після одноразового внутрішньоочеревинного введення високих доз від 4000 мг/кг до 10000 мг/кг досліджуваних нанопорошків органами з

найвищим накопиченням нано-TiO₂ та нано-TiO₂-Ag виявилися нирки, печінка, селезінка і легені у мишей (p<0,05).

6. Гістологічними методами встановлені особливості проявів патологічних змін у структурній організації тканин печінки, нирок і легень мишей після одноразового внутрішньоочеревинного введення нанопорошків TiO₂ і TiO₂-Ag у гострому експерименті. Найбільш характерними морфологічними ознаками токсичної дії нано-TiO₂ на тканину печінки виявились дистрофічні зміни на рівні 67,7 % (цитоплазматична вакуолізація в гепатоцитах), а при впливі нано-TiO₂-Ag – початкові некротичні зміни на рівні 70 % (гепатоцити з пікнозом ядер). У зразках печінки методом СЕМ було виявлено агломерати чужорідного матеріалу (кристалічні включення), які були представлені титаном. Структурні прояви токсичної дії нано-TiO₂ та нано-TiO₂-Ag на тканину нирок проявлялись збільшенням сечового просвіту у ниркових тільцях, дистрофічні зміни епітелію каналців різного ступеня (від набряку епітелію до некрозу і руйнації каналців). В легенях виявленні дистрофічні, некротичні зміни та геморагічне просочення тканини легень.

7. Встановлено, що наноматеріали TiO₂ і TiO₂-Ag у концентраціях 30 мкг/мл в умовах *in vitro* здатні підвищувати функціональну активність мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією прозапальних цитокінів IL-1, IL-6, TNF-α та продукцію IL-4 у донорів (p<0,05), що свідчить про можливий потенційний вплив на формування хронічного запалення та алергічних реакцій у працівників виробництва наноматеріалів. Функціональна активність мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією цитокінів (IL-1, IL-6, TNF-α, IL-4) зростає більш інтенсивно під впливом нано-TiO₂-Ag ніж нано-TiO₂, що свідчить про відносно більшу потенційну небезпеку імунотоксичності нано-TiO₂-Ag для операторів синтезу.

8. Встановлено, що нанопорошки діоксиду титану (нано-TiO₂ і нано-TiO₂-Ag), починаючи з дози 1/10 LD₅₀, можуть чинити пошкоджуючу дію на статеві клітини кнурів. Вона проявляється зниженням дихальної активності сперміїв та збільшенням активності сукцинатдигідрогепази. Найбільш чутливим маркером

виявився показник виживання сперміїв, значення якого достовірно знижувалось за дії наночастинок TiO_2 в дозі $1/10 \text{LD}_{50}$.

9. Проведені токсикологічні і гігієнічні дослідження дозволили визначити розрахункові ОБРВ досліджуваних нами нанопорошків за величинами DL_{50} (мг/кг), молекулярною масою (г/моль), кількістю атомів металу в сполуці з врахуванням коефіцієнту запасу. Для нано- TiO_2 розрахункова ОБРВ становить $0,3 \text{ мг/м}^3$, а для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – $0,2 \text{ мг/м}^3$.

Рівень ризику шкідливого впливу нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на робочому місці оператора синтезу, розрахований нами за токсичністю наноаерозолю та експозицією наноаерозоля на робочому місці оператора синтезу, можна оцінити як середній.

10. Проведені експериментально-токсикологічні і виробничо-гігієнічні дослідження, дозволили науково обґрунтувати і запровадити низку оздоровчих заходів: медико-біологічних, організаційних, санітарно-технологічних, індивідуальних та інших заходів.

ПРОФІЛАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Результати виконаних фізіолого-гігієнічних, експериментально-токсикологічних досліджень та аналітичний аналіз літератури, дозволили нам розробити та науково обґрунтувати профілактичні рекомендації попередження несприятливого впливу нанопорошків діоксиду титану і нанокompозиту діоксиду титану з сріблом на здоров'я операторів синтезу.

Законодавчі та нормативно-методичні:

1. Обґрунтування підходів, розроблення та запровадження нових гігієнічних нормативних документів щодо ГДК в повітрі робочої зони нанопорошків діоксиду титану і нанокompозиту діоксиду титану з сріблом з урахуванням їх розмірів, форм, питомої площі поверхні та інших фізико-хімічних властивостей.

2. Розроблений «Спосіб стабілізації нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером» рекомендований до використання при якісному та кількісному визначенні наночастинок діоксиду титану і композиту діоксиду титану з сріблом в повітрі робочої зони і вже сьогодні використовується в ряді токсикологічних лабораторій, додаються акти впровадження.

3. Розроблені «Спосіб оцінки токсичності наноматеріалів з використанням як тест-об'єкт сперматозоїдів кнурів *in vitro*» і методичні рекомендації «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*» рекомендуються до використання в методах *in vitro* в токсиколого-гігієнічній оцінці нових наноматеріалів та хімічних речовин, що вже впроваджені в ряді токсикологічних лабораторій, додаються відповідні акти.

4. Проведення атестації та санітарно-гігієнічної паспортизації робочих місць операторів синтезу нанопорошків діоксиду титану і нанокompозиту діоксиду титану з сріблом на багатосекційній обертовій печі.

Організаційні:

5. Інформування працівників, про можливість потрапляння наночастинок TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ у повітря робочої зони під час технологічного процесу, про шляхи надходження цих наночастинок до організму і про можливі ризики.

6. Забезпечення працівників засобами індивідуального захисту (ЗІЗ), спецодягом і санітарно-гігієнічними засобами;

7. Санітарно-просвітницька робота, що включає навчання співробітників правильного застосування ЗІЗ, інформування про необхідність використання індивідуальних засобів захисту, використання спецодягу, дотримання особистої гігієни, прийому їжі у спеціально відведених місцях, заборона паління на робочих місцях та інші.

Технічні і технологічні:

8. За технологічною можливістю рекомендується створення автоматизованих і герметичних технологічних процесів синтезу нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$, які зменшать кількість ручних операцій з нанопорошками та унеможливають потрапляння наночастинок TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ в повітря робочої зони.

Санітарно-технічні:

9. Рациональна організація ефективної роботи місцевої витяжної вентиляції при проведенні ручних операцій з виготовлення нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$.

10. Кондиціонування повітря з метою підтримки або зміни параметрів повітряного середовища (температури, швидкості руху повітря, вологості).

Медико-соціальні:

11. Проведення попередніх та щорічних періодичних медичних оглядів працівників виробництва, відповідно до наказу МОЗ України № 246 від 21 травня 2007 р. «Про затвердження Порядку проведення медичних оглядів працівників певних категорій».

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Zahorny M., Sokolsky G. Nanosized titania composites for reinforcement of photocatalysis and photoelectrocatalysis. UK, Newcastle upon Tyne: Academic Cambridge Scholars Publishing, 2022. 275 p.
2. Kriukov A.I., Stroiuk A.L., Kuchmii S.Ya., Pohodenko V.D. Nanophotocatalysis. Kyiv: Akadempriodyka, 2013. 618 p.
3. Zahorny M. Functional nanocomposites based of titanium dioxide. Saarbrücken: Lambert Academic Publishing, 2018. 147 p.
4. Povnitsa O., Zahorodnia S., Artiukh L., Zahorny M., Ievtushenko A. Photodynamic treatment of titanium dioxide nanoparticles is convenient method of adenoviral inactivation. Mikrobiolohichnyi Zhurnal. 2023. Vol.85, N 3. P. 61-69. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj85.03.061>.
5. Kato T., Tohma H., Miki O. Degradation of norovirus in sewage treatment water by photocatalytic ultraviolet disinfection. Nippon Steel Technical Report. 2005. N 92. P. 41-44.
6. Паньківська Ю.Б., Білявська Л.О., Повниця О.Ю., Загорний М.М., Рагуля А.В., Харчук М.С., Загородня С.Д. Антиаденовірусна активність наночастинок діоксиду титану. Мікробіол. журн. 2019. Т. 81, № 5. С. 73-84. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj81.05.073>
7. Deshmukh S.P., Mullani S.B., Koli V.B., Patil S.M., Kasabe P.J., Dandge P.B., Delekar S.D. Ag Nanoparticles connected to the surface of TiO₂ electrostatically for antibacterial photoinactivation studies. Photochemistry and Photobiology. 2018. Vol. 94, N 6. P. 1249-1262. DOI: <https://doi.org/10.1111/php.12983>.
8. Oliveira I.N.de, Oliveira R.I.S., Pereira E.B., Padilha F.F., Egues S.M., Hernández-Macedo M.L. Synthesis and photocatalytic effects of TiO₂-Ag on antibiotic-resistant bacteria. Peer Review. 2023 Vol. 5, N 8. P. 45–61. <https://doi.org/10.53660/400.prw1014B>

9. Gummy D., Morais C., Bowen P., Pulgarin C., Giraldo S., Hajdu R., Kiwi J. Catalytic activity of commercial of TiO₂ powders for the abatement of the bacteria (E. coli) under solar simulated light: Influence of the isoelectric point. *Applied Catalysis B Environmental*. 2006. N 63(1-2). P. 76–84. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2005.09.013>
10. Kermani S.A., Salari S., Nejad Almani P.G. Comparison of antifungal and cytotoxicity activities of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles with amphotericin B against different *Candida* species: In vitro evaluation. *J Clin Lab Anal*. 2021. Vol. 35, N 2. e23577. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcla.23577>
11. Dicastillo C.L.de, Correa M.G., Martínez F.B., et al. Antimicrobial effect of titanium dioxide nanoparticles. *Antimicrobial Resistance - A One Health Perspective*. London: IntechOpen, 2020. 208 p. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.90891>
12. Леоненко О.Б., Демецька О.В., Леоненко Н.С. Наноматеріали на робочому місці: актуальні питання безпеки праці. Київ: ВД «Авіцена», 2018. 144 с.
13. Кундієв Ю.І., Яворовський О.П., Шевченко А.М. та ін. Гігієна праці: підручник. Розділ 16. Нанотехнології і нанопродукти – нові чинники в гігієні праці. К.: ВСВ «Медицина», 2011. С. 444-461.
14. Москаленко В.Ф., Яворовський О.П. Екологічні і токсиколого-гігієнічні аспекти біологічної безпеки нанотехнологій, наночастинок та наноматеріалів. *Наук. вісн. Нац. мед. ун-ту*. 2009. № 3. С. 25–35.
15. Солоха Н.В. Фізіолого-гігієнічні і токсикологічні аспекти профілактики впливу нанопорошків дисиліциду хрому та нітриду титану на організм працівників: автореф. дис. ... канд. мед. наук. К., 2018. 24 с.
16. Солоха Н.В. Фізіолого-гігієнічні і токсикологічні аспекти профілактики впливу нанопорошків дисиліциду хрому та нітриду титану на організм працівників: дис. ... канд. мед. наук. К., 2018. 215 с.
17. Barhoum A., García-Betancourt M.L., Jeevanandam J., Hussien E.A., Mekawy S.A., Mostafa M., Omran M.M., Abdalla S.M., Bechelany M. Review on

natural, incidental, bioinspired, and engineered nanomaterials: history, definitions, classifications, synthesis, properties, market, toxicities, risks, and regulations. *Nanomaterials*. 2022. № 12(2), 177. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano12020177>

18. Павлиго Т.М., Сердюк Г.Г. Класифікація наноматеріалів у системі міжнародної стандартизації. *Наноструктурне матеріалознавство*. 2010. №4. С. 92-99.

19. Nyamukamba P., Okoh O., Mungondori H., Taziwa R., Zinya S. Synthetic methods for titanium dioxide nanoparticles: a review. *Titanium dioxide – material for a sustainable environment*. IntechOpen. 2018. 518 p. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.75425>

20. Миронюк І.Ф., Челядин В.Л. Методи одержання діоксиду титану (огляд). *Фізика і хімія твердого тіла*. 2010. Т. 11, № 4. С. 815-831.

21. Lavrynenko O.M., Zahornyi M.M., Tyshchenko N.I. et al. Synthesis and Properties of Nanocomposites Based on Iron and Titanium Oxides and Modified with Silver. *Mater. Sci*. 2021. № 57, P. 195-200. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11003-021-00531-4>

22. Сокольський Г.В., Загорний М.М., Лобунець Т.Ф., Тищенко Н.І., Широков О.В., Рагуля А.В та ін. Фотоелектрокаталітична деградація аміноазобарвників діоксидом титану з поверхневими станами Ti^{3+} . *Journal of Chemistry and Technologies*. 2019. Т. 27, № 2. С. 130-139.

23. Трахтенберг І.М. та ін. Лікарська токсикологія. Доклінічні дослідження: монографія. Київ: ВД «Авіцена», 2020. 544 с.

24. Солоха Н.В., Яворовський О.П., Карлова О.О., Курченко А.І., Савченко В.С. Функціональна активність мононуклеарних клітин крові за продукцією цитокінів під дією нанокмпозитних матеріалів в умовах *in vitro*. *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2015. № 2. С. 94–98.

25. Спосіб оцінки токсичності нанопорошків безкисневих сполук металів за функціональною активністю мононуклеарних клітин крові *in vitro*:

пат. 119419 Україна: МПК G01N 33/50 (2006.01). № u201703252; заявл. 05.04.2017; опубл. 25.09.2017, Бюл. № 18. 2 с.

26. Revision of the opinion on Titanium Dioxide, nano form. Scientific Committee on Consumer Safety, SCCS/1516/13. 2014. 113 p.

27. Wang J., Zhou G., Chen C., et al. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *The journal of physical chemistry*. 2007. V. 168. P. 176–185.

28. Vasantharaja D., Ramalingam V., Aadinaath Reddy G., et al. Oral toxic exposure of titanium dioxide nanoparticles on serum biochemical changes in adult male Wistar rats. *Nanomed J*. 2015. № 2(1). P. 46-53.

29. Yavorovskiy O., Omelchuk S., Sokurenko L., et al. Environmental and occupational hazards of metal nanocompounds production and application: hygienic, clinical and toxicological aspects. *Wiad Lek*. 2019. № 72(8). P. 1504-1511.

30. Яворовський О.П., Рагуля А.В., Солоха Н.В., Карлова О.О., Брухно Р. П. Нові наноматеріали медичного призначення: параметри токсичності та безпечні умови використання. *Український науково-медичний молодіжний журнал (науково-практичне видання)*. 2016. № 2 (94). С. 46.

31. Яворовський О.П., Стеченко Л.О., Солоха Н.В., Кривошеєва О.І., Чухрай С.М. Вплив наночастинок нітриду титану на ультраструктуру респіраторного відділу легень щурів у хронічному експерименті. *Довкілля та здоров'я*. 2017. № 2. С. 4-7.

32. Солоха Н.В., Колесова Н.А. Структурне підґрунтя патогенної дії ультрамікроскопічних часток нітриду титану на дихальну систему. *Довкілля та здоров'я*. 2016. № 1. С. 18-21.

33. Duan Y., Liu J., Ma L., Li N., Liu H., et al. Toxicological characteristics of nanoparticulate anatase titanium dioxide in mice. *Biomaterials*. № 31. 2010. P. 894–899. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.10.003>.

34. Яворовський О.П., Зінченко Т.О., Куфтарєва Т.П. Ультраструктурні зміни респіраторного відділу щурів на ранніх етапах після введення наносрібла. *Журналу Академії медичних наук України*. 2010. № 3. С. 474-482.

35. Зінченко Т.О. Гігієнічні і токсикологічні аспекти профілактики несприятливої дії наночастинок срібла: дис. ... канд. мед. наук. К., 2011. 170 с.
36. Трахтенберг І.М., Дмитруха Н.М., Короленко Т.К. та інші. Експериментальне дослідження впливу наночастинок оксиду заліза на організм щурів за умови одноразового інтратрахеального введення. Український журнал з проблем медицини праці. 2020. Т. 16, № 4. С. 251-260. DOI: <https://doi.org/10.33573/ujoh2020.04.251>
37. Rahman L., Wu D., Johnston M., Williams A., Halappanavar S., Toxicogenomics analysis of mouse lung responses following exposure to titanium dioxide nanomaterials reveal their disease potential at high doses. *Mutagenesis*. 2017. V. 32, № 1. P. 59-76. DOI: <https://doi.org/10.1093/mutage/gew048>
38. Warheit D.B., Brown S.C. What is the impact of surface modifications and particle size on commercial titanium dioxide particle samples? – A review of in vivo pulmonary and oral toxicity studies – Revised 11-6-2018. *Toxicology Letters*. 2019. V. 302. P. 42-59. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.11.008>
39. Алексійчук В.Д. Гігієнічна оцінка особливостей впливу наночастинок свинцю на організм та наукове обґрунтування заходів профілактики їх негативної дії: дис. ... канд. мед. наук. К., 2016. 197 с.
40. Алексійчук В.Д. Гігієнічна оцінка особливостей впливу наночастинок свинцю на організм та наукове обґрунтування заходів профілактики їх негативної дії: автореф. дис. ... канд. мед. наук. К., 2016. 23 с.
41. Алексійчук В. Д. Вивчення особливостей впливу наночастинок свинцю на ліпіди печінки експериментальних щурів / В. Д. Алексійчук, С. Т. Омельчук, Т. С. Брюзгіна. // Довкілля та здоров'я. – 2013. – №2 – С. 9–12.
42. Омельчук С.Т., Алексійчук В.Д., Сокурєнко Л.М. Біохімічні показники крові та морфофункціональний стан печінки експериментальних щурів, які зазнали дії наночастинок сульфідів свинцю у різні терміни дослідження. *Лікарська справа*. 2014. №3-4 (1127). С. 114-119.
43. Омельчук С.Т., Алексійчук В.Д. Морфофункціональний стан печінки та зміни біохімічних показників крові щурів, які зазнали дії наночастинок

сульфіду свинцю у віддалені терміни дослідження. Медичні перспективи. 2014. С. 139-144.

44. Алексійчук В.Д., Сокурєнко Л.М., Омельчук С.Т. Особливості впливу наночасток сульфїду та нїтрату свинцю на організм експериментальних тварин у різні періоди дослідження та методи корекції їх негативної дії. Світ медицини та біології. 2015. №4(54). С. 97-101.

45. Rihane N., Younes B., Amara S., Mrad I., Ben-Slama I., Jeljeli M., Omri K., Ghoul J.E. et al. Subacute toxicity of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in male rats: emotional behavior and pathophysiological examination. Environ Sci Pollut Res. 2015. Vol. 22. P. 8728-8737. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-014-4002-5>

46. Апихтіна О.Л. Гематологічні показники експериментальних тварин після тривалого введення хлориду кадмію та наночастинок сульфїду кадмію різного розміру. Український журнал з проблем медицини праці. 2017. № 2(51). С. 22-29.

47. Апихтіна О.Л., Козлов К.П. Динаміка накопичення кадмію у внутрішніх органах щурів після тривалого введення хлориду кадмію та наночастинок сульфїду кадмію різного розміру. Медичні перспективи. 2017. Т. XXII, № 2. С. 4-9

48. Мельник Н.А. Узагальнення даних світової літератури щодо проникнення наночастинок металів транскутанним шляхом. Український журнал з проблем медицини праці. 2017. № 1(50). С. 59-68.

49. Gamer A.O., Leibold E., Van Ravenzwaay B. The in vitro absorption of microfine zinc oxide and titanium dioxide through porcine skin. Toxicology in Vitro. 2006. № 20. P. 301-307.

50. Cross S.E., Innes B., Roberts M.S., et al. Human skin penetration of sunscreen nanoparticles: In-vitro assessment of a novel micronized zinc oxide formulation. Skin Pharmacology and Physiology. 2007. № 20. P. 148-154.

51. Мельник Н.А. Токсиколого-гігієнічна характеристика хронічного впливу наночастинок сульфїду свинцю на непошкоджену шкіру та критерії

оцінки їх небезпеки (експериментальне дослідження): дис. ... канд. мед. наук. К., 2018. 230 с.

52. Мельник Н.А., Луговський С.П., Діденко М.М. Морфофункціональні зміни шкіри щурів при хронічному впливі на її непошкоджену поверхню наночастинок PbS. Вісник проблем біології і медицини. 2016. № 2 (2). С. 220-224.

53. Мельник Н.А. Характеристика процесів перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в організмі щурів при впливі мікро і наночастинок неорганічних сполук свинцю на непошкоджену шкіру. Український журнал з проблем медицини праці. 2016. №4 (49). С. 58-65.

54. Мельник Н.А. Показники перекисного окислення ліпідів та стану системи антиоксидантного захисту у печінці та нирках щурів при дії на їх шкіру наночастинок PbS різного розміру. Теоретична і експериментальна медицина. 2017. № 1 (74). С. 31-38.

55. Мельник Н.А. Узагальнення даних світової літератури щодо проникнення наночастинок металів транскутанним шляхом. Український журнал з проблем медицини праці. 2017. №1 (50). С. 59-68.

56. Melnyk N.A., Lugovskyj S.P., Didenko M.M. Morphological changes in skin of rat's skin in long-term exposure to lead sulfide nanoparticles on the undamaged skin // East european scientific journal. 2017. № 3 (19). P. 22-30.

57. Мельник Н.А., Луговський С.П., Діденко М.М. Морфофункціональні зміни у внутрішніх органах щурів при хронічному впливі на непошкоджену шкіру НЧ PbS різних розмірів. Сучасні проблеми токсикології. 2017. №3. С. 34-47.

58. Зінченко Т.В. Гігієнічні і токсикологічні аспекти профілактики несприятливої дії наночастинок срібла : автореф. дис. ... канд. мед. наук. К., 2011. 23 с.

59. Мінченко Д.О., Божко І.В., Зінченко Т.О., Яворовський О.П., Мінченко О.Г. Зміни у рівні експресії циркадіальних генів Per1, Clock і BMal1 у

печінці, легенях, сім'яниках, нирках та серці щурів за дії на організм наночасток срібла. Біологічні студії/Studia Biologica. 2010. Т. 4, № 1. С. 5-14.

60. Яворовський О.П., Мінченко О.Г., Мінченко Д.О., Зінченко Т.О. Експресія казеїнкінази-1ε та Per2 у печінці, легенях, нирках, сім'яниках та міокарді при дії на організм щурів наночасток срібла. Журн. АМН України. 2010. Т.16, № 1. С. 160-167.

61. Мінченко Д.О., Зінченко Т.О., Яворовський О.П., Тсучігара К., Есумі Г., Мінченко О.Г. Експресія SNF1/AMP-активованої протеїнкінази (SNARK) у печінці, легенях, нирках, головному мозку, сім'яниках та міокарді при дії на організм щурів наночасток срібла. Науковий вісник Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. 2010. Т. 28, № 1. С. 33-39.

62. Minchenko D., Bozhko I., Zinchenko T., Yavorovsky O., Minchenko O. Expression of SNF1/AMP-activated protein kinase and casein kinase-1epsilon in different rat tissues is a sensitive marker of in vivo silver nanoparticles action. Materialwissenschaft und Werkstofftechnik. 2011. V. 42, № 2. P. 21-25.

63. Minchenko O.H., Yavorovsky O.P., Solokha N.V., Minchenko O.H. Effect of chromium disilicide and titanium nitride nanoparticles on the expression of NAMPT, E2F8, FAS, TBX3, IL13RA2, and UPS7 genes in mouse liver. The Ukrainian Biochemical Journal. 2017. Vol. 89. № 2. P. 31-42.

64. Minchenko D.O., Tsybmal D.O., Yavorovsky O.P., Solokha N.V. Expression of genes encoding IGFBNs, SNARK, CD36, and PECAM1 in the liver of mice treated with chromium disilicide and titanium nitride nanoparticles. Endocrine Regulations. 2017. № 51(2). P. 84-95.

65. Sang X., Zheng L., Sun Q., Li N., Cui Y., Hu R., Gao G., Cheng Z., Cheng J., Gui S., Liu H., Zhang Z., Hong F. The chronic spleen injury of mice following long-term exposure to titanium dioxide nanoparticles. J Biomed Mater Res A. 2012. № 100(4) P. 894-902.

66. Scarino A., Noll A., Renzi P.M., Cloutier Y., Vincent R., Truchon G. et al. Impact of Emerging Pollutants on Pulmonary Inflammation in Asthmatic Rats:

Ethanol Vapors and Agglomerated TiO₂ Nanoparticles. *Inhal Toxicol.* 2012. Vol. 24. P. 528-38. DOI: <https://doi.org/10.3109/08958378.2012.696741>

67. Chen H.W., Su S.F., Chien C.T., Lin W.H. Titanium Dioxide Nanoparticles Induce Emphysema-Like Lung Injury in Mice. *FASEB J.* 2006. № 20. P. 2393-2395. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.06-6485fje>

68. Yamano S., Takeda T., Goto Y., et al. No evidence for carcinogenicity of titanium dioxide nanoparticles in 26-week inhalation study in rasH2 mouse model. *Sci Rep.* 2022. №12(1), 14969. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19139-y>

69. Urrutia-Ortega I.M. et al. Food-grade titanium dioxide exposure exacerbates tumor formation in colitis associated cancer model. *Food Chem. Toxicol.* 2016. № 93. P. 20–31.

70. Bettini S. et al. Food-grade TiO₂ impairs intestinal and systemic immune homeostasis, initiates preneoplastic lesions and promotes aberrant crypt development in the rat colon. *Sci. Rep.* 2017. № 7, 40373.

71. Proquin H. et al. Gene expression profiling in colon of mice exposed to food additive titanium dioxide (E171). *Food Chem. Toxicol.* 2018 № 111, P. 153-165.

72. Blevins L.K. et al. Evaluation of immunologic and intestinal effects in rats administered an E 171-containing diet, a food grade titanium dioxide (TiO₂). *Food Chem. Toxicol.* 2019. № 133, 110793.

73. Warheit D.B., Brown S.C., Donner E.M. Acute and subchronic oral toxicity studies in rats with nanoscale and pigment grade titanium dioxide particles. *Food Chem. Toxicol.* 2015. № 84, P. 208-224.

74. Carbon Black, Titanium Dioxide, and Talc. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 93. Lyon, France: 2010, 466 p.

75. Baan R.A. Carcinogenic hazards from inhaled carbon black, titanium dioxide, and talc not containing asbestos or asbestiform fibers: Recent evaluations by an IARC Monographs Working Group. *Inhal. Toxicol.* 2007. № 19 (1). P. 213-228.

76. Lee K.P., Trochimowicz H.J., Reinhardt C F. Pulmonary response of rats exposed to titanium dioxide (TiO₂) by inhalation for two years. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1985. № 79, P. 179-192.

77. Heinrich U. et al. Chronic inhalation exposure of Wistar rats and two different strains of mice to diesel engine exhaust, carbon black, and titanium dioxide. *Inhal. Toxicol.* 1995. № 7, P. 533-556.

78. Апихтіна О.Л., Сапега О.С. Порівняльна оцінка цитотоксичної дії наночастинок міді та хлориду міді на культурах клітин людини. *Світ медицини та біології.* 2015. № 2(50). С. 105-107.

79. Simon M., Saez G., Muggioli G., Lavenas M., Trequesser Q.L., Michelet C. et al. In situ quantification of diverse titanium dioxide nanoparticles unveils selective endoplasmic reticulum stress-dependent toxicity. *Journal Nanotoxicology.* 2017. Vol. 11. P. 134-145. DOI: <https://doi.org/10.1080/17435390.2017.1278803>

80. Zahornyi M., Tyschenko N., Shyrokov O. and other. The effect of Ag content on the structural, optical, and cytotoxicity properties of TiO₂ nanopowders grown from TiO(OH)₂ precursor by the chemical deposition method. *Nanosistemi, Nanomateriali, Nanotehnologii.* 2021. T. 19, № 4. С. 923-940.

81. Zahornyi M.M., Tyschenko N.I., Lobunets T.F. and other. The Ag Influence on the Surface States of TiO₂, Optical Activity and Its Cytotoxicity. *J. Nano-electron. Phys.* 2021. Vol. 13, № 6. 06009(5pp).

82. Вембер В.В., Лавриненко О.М., Загорний М.М., Павленко О.Ю., Бенатов Д.Е. Дослідження біологічної активності наночастинок оксидів лантану, церію і титану та їх композитів, модифікованих сріблом. *Bulletin of National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute» Series «Chemical Engineering, Ecology and Resource Saving».* 2022. № 2 (21). С. 79-87. DOI: <https://doi.org/10.20535/2617-9741.2.2022.260354>

83. Pragathiswaran C., Smitha C., Abbubakkar B.M., Govindhan P., Anantha Krishnan N. Synthesis and characterization of TiO₂/ZnO-Ag nanocomposite for photocatalytic degradation of dyes and anti-microbial activity. *Materials Today: Proceedings.* 2021. № 41(2). P. 3357-3364. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.664>.

84. Weiss C., Carriere M., Delogu L.G. Toward Nanotechnology-Enabled Approaches against the COVID-19 Pandemic. ACS Nano. 2020. № 14 (6). P. 6383-6406. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c03697>

85. Яворовський О.П., Веремей М.І., Солоха Н.В. та інші. Дослідження фізіолого-гігієнічних особливостей умов праці, стану здоров'я працівників і токсикологічних властивостей тугоплавких композитних нанопорошків на основі карбонітрідів титану і силіцидів молібдену, хрому, танталу (заключний). Звіт про науково-дослідну роботу кафедри гігієни праці і професійних хвороб НМУ імені О.О. Богомольця. Київ, 2015. 102 с.

86. Яворовський О.П., Солоха Н.В., Веремей М.І., Карлова О.О., Бобир В.В., Чоботар А.П. Гігієнічна оцінка виробничих чинників як основ управління ризиками у роботі операторів з одержання нанопорошків нітриду титану, дисиліциду хрому і діоксиду цирконію. Довкілля та здоров'я. 2016. № 4. С. 63-68.

87. Копач К.Д. Оцінка ризиків та профілактика виробничо-зумовленої захворюваності працівників стоматологічної служби в умовах застосування сучасних медичних технологій: дис. ... канд. мед. наук. К., 2019. 327 с.

88. Zhao L., Zhu Y., Chen Z., Xu H., Zhou J., Tang S., Xu Z., Kong F., Li X., Zhang Y., Li X., Zhang J., Jia G. Cardiopulmonary effects induced by occupational exposure to titanium dioxide nanoparticles. Nanotoxicology. 2018. № 12(2), P. 1-16 DOI: <https://doi.org/10.1080/17435390.2018.1425502>

89. Зінченко Т.О. Гігієнічні і токсикологічні аспекти профілактики несприятливої дії наночасток срібла: автореф. дис. ... канд. мед. наук. К., 2011. 23 с.

90. Кундієв Ю. І., Трахтенберг І. М., Яворовський О. П., Демецька О. В., Апихтіна О. Л., Дмитруха Н. М., Бабій В. Ф., Кашуба М. О., Ткаченко Т. Ю., Андрусішина І. М., Солоха Н. В., Копач К. Д., Веремей М. І., Брухно Р. П. Методичні рекомендації «Гігієнічне нормування та контроль наноматеріалів у виробничому середовищі», затверджені першим віцепрезидентом НАМНУ,

академіком Ю. І. Кундієвим. Погоджені т.в.о. Головного державного санітарного лікаря України С. В. Протасом. Київ, 2016. 21 с.

91. Луговський С.П., Демецька О.В., Цапко В.Г. Сучасні підходи до тестування та регламентації наноматеріалів. *Ukrainian Journal of Occupational Health*. 2019. № 15(4). С. 263-270. DOI: <https://doi.org/10.33573/ujoh2019.04.263>

92. Pietroiusti A., Magrini A. Engineered nanoparticles at the workplace: current knowledge about workers' risk. *Occupational medicine (Oxford, England)*. 2014. № 64(5). P. 319-330. DOI: <https://doi.org/10.1093/occmed/kqu051>

93. Рябовол В.М. Особливості будови, фізико-хімічних і токсикологічних властивостей наночастинок діоксиду титану, одержаного за технологією термічного розкладу (літературний огляд і власні дослідження). *Довкілля та здоров'я*. 2020. № 4 (97), С. 63-70. DOI: <https://doi.org/10.32402/dovkil2020.04.063>

94. Козар Т.І., Рябовол В.М. Аналіз досліджень антиканцерогенних властивостей комбінації ультрафіолетового випромінювання та наночастинок діоксиду титану на злоякісних культурах клітин. XI Міжнародний семінар студентів та молодих вчених, присвячений всесвітньому дню боротьби з раком: (м. Київ, 3 лютого 2023 р.). *Український науково-медичний молодіжний журнал (Спеціальний випуск)*, Т. 137, № 1. 2023. С. 8-9.

95. Holder C., Schaak R. Tutorial on Powder X-ray Diffraction for Characterizing Nanoscale Materials. *ACS Nano*. 2019. № 13(7) P. 7359-7365. DOI: <https://doi:10.1021/acsnano.9b05157>

96. Лавриненко О.М., Загорний М.М., Тищенко Н.І. та ін. Синтез та властивості нанокompозитів біомедичного призначення на основі оксидів феруму і титану, модифікованих аргентумом. *Фізико-хімічна механіка матеріалів*. 2021. № 2. С. 51-56.

97. Gavrilova N.N., Nazarov V.V. Analysis of the porous structure based on adsorption data. М.: RKHTU im. D.I. Mendelejeva. 2015, 132 p.

98. Zahorny M.M., Lavrynenko O.M., et al. Modern photoactive nanocomposites based on TiO₂ and CeO₂. *J. Nano- Electron. Phys.* 2023. Vol. 15, № 4, 04001(6pp).
99. Methodical instructions for conducting studies on the assessment of irritant properties and establishment of maximum allowable concentrations of selectively acting irritants in the air of the work area (approved by the Deputy Chief State Sanitary Doctor of the USSR on August 11, 1980, No. 2196-80).
100. Prozorovsky V.B. Statistical processing of the results of pharmacological studies. *Psychopharmacology and Biological Narcology.* 2007. Vol. 7. № 3-4. P. 2090-2120.
101. Alekseeva O.G., Petkevich A.I. On the method for determining the allergenic properties of chemical substances. *Hygiene and Sanitation.* 1973. No. 3. P. 64-67.
102. Lim R.K., Rink K.G., Glass H.G., Soaje-Echague E.A. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. *Arch.Intern.Pharm.Ther.* 1961. Vol. 130. P. 336-352.
103. Skalny A.V., Lakarova E.V., Kuznetsov V.V., Skalnaya M.G. Analytical methods in bioelementology. St. Pet.: Nauka. 2009, 264 p.
104. Andrusyshyna I.M., Lampeka O.G., Golub I.O., et al. Evaluation of the destruction of mineral exchange in professional contingents by the method of atomic emission spectrometry with inductively coupled plasma: methodical recommendations 72.14/133.14. Kyiv: Avicena, 2014. 60 p.
105. Влізло В.В., Федорук Р.С., Ратич І.Б. та ін. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: Сполом, 2012. 764 с.
106. Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. Киев: МИЦ "Мединформ", 2018. 579 с.
107. Демецька О.В., Мовчан В.О., Рябовол В.М. Стабілізація нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером. Нанотехнології і наноматеріали у фармації та медицині: матеріали V

всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (м. Харків, 23 квітня 2021 р.). Харків, 2021. С. 28.

108. Демецька О.В., Мовчан В.О., Яворовський О.П., Рябовол В.М., Белюга О.Г. Спосіб стабілізації нанопорошків металів та їх похідних глюкозоцитратним буфером: пат. 148325 Україна G01N33/18, G01N33/48, B82Y5/00. № u202007215; заяв. 12.11.2020; опубл. 28.07.2021, бюл. № 30/2021. 2 с.

109. Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М., Демецька О.В. Спосіб оцінки токсичності наноматеріалів з використанням як тест-об'єкт сперматозоїдів кнурів *in vitro*: пат. 152744 Україна G01N 33/48, G01N 33/483, G01N 33/50, № u202203484; заяв. 21.09.2022; опубл. 05.04.2023, бюл. №14/2023. 3 с.

110. Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М. Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*. Методичні рекомендації, затв. начальником лікувально-організаційного управління НАМН України, д.мед.н., проф. І. Шкробанець. Київ, 2023. 4 с.

111. Яворовський О.П., Веремей М.І., Шевцова В.М. та інші. Фізіолого-гігієнічна характеристика умов праці при виробництві нанокристалічного порошку титанату барію методом безперервного термічного синтезу. Український журнал з проблем медицини праці. 2011. № 1(25). С. 28-34.

112. Яворовський О.П., Веремей М.І., Шевцова В.М. та інші. Гігієнічна оцінка ризиків впливу наночасток металів в умовах виробництва і застосування (гігієнічні, психофізіологічні, екологічні та токсикологічні аспекти) (заключний). Звіт про науково-дослідну роботу кафедри гігієни праці і професійних хвороб НМУ імені О.О. Богомольця. Київ, 2012. 179 с.

113. Рябовол В.М., Козар Т.І. Гігієнічна оцінка важкості праці оператора при виробництві нанопорошку діоксиду титану методом термічного синтезу на багатосекційній обертовій печі. Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Київ, 15 березня 2023 р.). Київ, 2023. С. 169-170.

114. Рябовол В.М., Козар Т.І., Брухно Р.П. Гігієнічне дослідження параметрів мікроклімату та виробничого шуму на виробництві нанопорошку діоксиду титану методом термічного синтезу. Здоров'я для всіх (Health for all): матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю до всесвітнього дня здоров'я 2023 р. та 75-річчя ВООЗ (м. Київ, 6 квітня 2023 р.). Клінічна та профілактична медицина. № 2(24). 2023. С. 107.

115. Яворовський О.П., В.М. Рябовол, Т.С. Зазуляк. Порівняльна токсиколого-гігієнічна оцінка нових нанопорошків TiO_2 та TiO_2-Ag . Актуальні проблеми профілактичної медицини та медичної екології: збірник наукових праць до науково-практичної конференції присвяченій пам'яті професора Шафрана Л.М. (м. Львів, 17-18 травня 2023 року). Львів, 2023. С. 102-112.

116. Der-Shing Lee, Yu-Wen Chen. Nano Ag/ TiO_2 catalyst prepared by chemical deposition and its photocatalytic activity. 2014. Vol. 45, № 2. P. 705-712. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2013.07.007>

117. Rui Zhou, Shengdong Lin, Huixin Zong, Tingting Huang, Fengping Li, Jiahong Pan, Jingqin Cui. Continuous synthesis of Ag/ TiO_2 nanoparticles with enhanced photocatalytic activity by pulsed laser ablation. Journal of Nanomaterials. 2017. Vol. 2017, 4604159. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/4604159>

118. Zhang W.F., He Y.L., Zhang M.S., Yin Z., Chen Q. Raman scattering study on anatase TiO_2 nanocrystals. J. Phys. D: Appl. Phys. 2000, No. 33. P. 912 -916.

119. Ma W., Lu Z., Zhang M. Investigation of the structural transformation in nanophase titanium dioxide by Raman spectroscopy. Appl. Phys. 1998. Vol. 66. P. 621-627.

120. Tian F., Zhang Y., Zhang J., Pan C. Raman spectroscopy: a new approach to measure the percentage of anatase TiO_2 exposed (001) facets. J. Phys. Chem. 2012. Vol. 116. P. 7515-7519.

121. Lavrynenko O.M., Zahornyi M.M., Vember V.V., Pavlenko O.Yu., et al. Nanocomposites based on cerium, lanthanum, and titanium oxides doped with silver for biomedical application. Condens. Matter. 2022 Vol. 7, N 3. 45.

122. Загорний М.М., Яворовський О.П., Рябовол В.М., Тищенко Н.І., Лобунець Т.Ф., Томила Т.В., Широков О.В., Рагуля А.В., Анісімов Є.М. Морфологічні, спектральні і токсикологічні особливості нового композитного матеріалу нанодіоксиду титану з наносріблом для використання в медицині та біології. Медичні перспективи. 2022. Т. 27, № 1. С. 152-159. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.1.254381>

123. Рябовол В.М., Таран Н.В., Різник К.С. Особливості токсичності та будови нанопорошку діоксиду титану синтезованого методом термічного розкладу. Advancing in research and Education: Abstracts of XII International Scientific and Practical Conference (La Rochelle, France, December 07 – 10, 2020). 2020. С. 267-268. DOI: <https://doi.org/10.46299/ISG.2020.II.XII>

124. Рагуля А.В., Загорний М.М., Рябовол В.М., Тищенко Н.І. Характеристика будови та токсикологічних властивостей нанопорошків діоксиду титану та його композиту з наносріблом. Нанотехнології і наноматеріали у фармації та медицині: матеріали V Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (м. Харків, 23 квітня 2021 р.). Харків, 2021. С. 70.

125. Zahornyi M., Lavrynenko O., Tyschenko N., Ragulya A., Riabovol V., Zinchenko T. Structural features and toxicological properties of TiO_2/Ag and La_2O_3/Ag nanocomposites. International Young Scientists Conference on Materials Science and Surface Engineering: Proceedings MSSE2021 (Lviv, September 22-24, 2021). Lviv, 2021. P. 82-84.

126. Заугольніков С.Д., Кочанов М.М., Лойт А.О., Ставчанский І.І. Экспресные методы определения токсичности и опасности химических веществ: монография. Л.: Медицина, 1978. 347 с.

127. Aliofkhaezaei M., Macdonald D.D., Matykina E., Parfenov E.V., Egorkinet V.S. et al. Review of plasma electrolytic oxidation of titanium substrates: Mechanism, properties, applications and limitation. Applied Surface Science Advances. 2021. Vol. 5. P. 67. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2021.100121>

128. Baranowska-Wójcik E., Sz wajgier D., Patryk Oleszczuk P., Winiarska-Mieczan A. Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles Exposure on Human Health — a Review. *Biological Trace Element Research*. 2020. Vol. 193. P. 118-129 DOI: <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01706-6>

129. Lu Z., Xie X., Zhou Y. et al. Gestational exposure to titanium dioxide nanoparticles impairs the placentation through dysregulation of vascularization, proliferation and apoptosis in mice. *Int. J. Nanomedicine*. 2018. Vol. 13. P.777-789. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S152400>

130. Hong F., Yu X., Wu N., Zhang Y. Progress of in vivo studies on the systemic toxicities induced by titanium dioxide nanoparticles. *Toxicol Res*. 2017. Vol. 6 P.115-133. DOI: <https://doi.org/10.1039/c6tx00338a>

131. Besha A.T., Liu Y., Bekele D.N., Dong Z., Naidu R., Gebremariam G.N. Sustainability and environmental ethics for the application of engineered nanoparticles. *Environ. Sci. Policy*. 2020, Vol. 103, P. 85-98. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2019.10.013>

132. Rashid M.M., Tavcer P.F., Tomšic B. Influence of Titanium dioxide nanoparticles on human health and the environment. *Nanomaterials*. 2021. Vol. 11 (9), P. 2354. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano11092354>

133. Bello D., Warheit D.B. Biokinetics of engineered nano-TiO₂ in rats administered by different exposure routes: implications for human health. *Nanotoxicology*. 2017. Vol. 11. P. 431-433. DOI: <https://doi.org/10.1080/17435390.2017.1330436>

134. Geraets L., Oomen A.G., Krystek P. et al. Tissue distribution and elimination after oral and intravenous administration of different titanium dioxide nanoparticles in rats. *Part Fibre Toxicol*. 2014. № 11, 30. DOI: <https://doi.org/10.1186/1743-8977-11-30>

135. Pujalté I., Dieme D., Haddad S., Serventi A.M., Bouchard M. Toxicokinetics of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles after inhalation in rats. *Toxicology Letters*. 2017. № 265, P. 77-85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.11.014>

136. Slavin R.G. Update on occupational rhinitis and asthma. *Allergy Asthma Proc.* № 31. P. 437-443. DOI: <https://doi.org/10.2500/aap.2010.31.3379>
137. Attia M., Saber H. Role played by T-helper 2 in resetting the cytokine balance in allergic patients. *The Egyptian Journal Of Internal Medicine.* 2014. № 26(3). P. 124-129. DOI: <https://doi.org/10.4103/1110-7782.145311>
138. Di Giampaolo L., Cavallucci E., Braga M., Renzetti A., Schiavone C., Quecchia C., et al. The persistence of allergen exposure favors pulmonary function decline in workers with allergic occupational asthma. *Int Arch Occup Environ Health.* 2012. № 85. P. 181-188. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00420-011-0653-4>
139. Chao Huang, Mayu Sun, Yang Yang, Feng Wang, et al. Titanium dioxide nanoparticles prime a specific activation state of macrophages. *Nanotoxicology.* 2017. № 11(6). P. 737-750. DOI: <https://doi.org/10.1080/17435390.2017.1349202>
140. Alae S., Ilani M. Effect of titanium dioxide nanoparticles on male and female reproductive systems. *Journal of Advanced Medical Sciences and Applied Technologies.* 2017. Vol. 3, № 1. P. 3-8. DOI: <https://doi.org/10.18869/nrip.jamsat.3.1.3>
141. Guerreiro D.D., Mbemya G.T., Bruno J.B., et al. Invitro culture systems as an alternative for female reproductive toxicology studies. *Zygote.* 2019. Vol. 27, № 2. P. 55-63. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0967199419000042>.
142. Демецька О.В., Діденко М. М., Мовчан В. О. та ін. Скринінгова оцінка пошкоджуючої дії наноматеріалів з використанням сперматозоїдів великої рогатої худоби як тест-об'єкту. *Південноукраїнський медичний науковий журнал,* 2021. № 29. С. 12-15.
143. Експрес-методі визначення токсичності наноматеріалів у розчинах *in vitro* з використанням сперматозоїдів великої рогатої худоби як тест-об'єкта: пат. 101308 Україна. № u201412531; заявл. 19.12.2014; опубл. 10.09.2015, Бюл. № 17. 2 с.
144. Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М., Демецька О.В. Порівняльна оцінка пошкоджуючої дії наночастинок на основі діоксиду титану на статеві клітини кнурів в експерименті *in vitro*. *Медичні*

перспективи. 2022. Т. 27, № 4. С. 13-19. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.4.271117>

145. Яворовський О.П., Андрусишина І.М., Рябовол В.М. Особливості розподілу титану та срібла у внутрішніх органах лабораторних щурів та мишей, експонованих високими дозами наночастинок діоксиду титану та його композиту з наносріблом. Медичні перспективи. 2023. Т. 28, № 1. С. 173-178. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.1.276213>

146. Рябовол В.М., Курченко А.І., Яворовський О.П., Савченко В.С., Таран Н.В. Дослідження функціональної активності мононуклеарних клітин крові за продукцією цитокінів під впливом фотоактивних титановмісних наноматеріалів *in vitro*. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2021. № 3. С. 23-30. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2021.3-03>

147. Рябовол В.М. Особливості токсичної дії новосинтезованих нанопорошків діоксиду титану та його нанокompозиту з сріблом. Annual young medical scientist's conference 2020: матеріали міжнародної конференції молодих науковців (м. Київ, 27-28 листопада, 2020). Український науково-медичний молодіжний журнал (Спеціальний випуск). Т. 120, № 4. 2020. С. 40. DOI: <https://doi.org/10.32345/USMYJ.120.2020>

148. Рябовол В.М. Дослідження місцево-подразнюючої та сенсibilізуючої дії нанодіоксиду титану та нанокompозиту діоксиду титану з сріблом в експерименті на лабораторних тваринах. Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Київ, 17 березня 2021 р.). Київ, 2020. С. 155-156.

149. Козар Т.І., Рябовол В.М. Дослідження внутрішньоочеревинної та перкутанної токсичності нанопорошків діоксиду титану та нанокompозиту діоксиду титану з сріблом на лабораторних тваринах. 42 Наукові читання імені О.О. Богомольця: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О.О. Богомольця (24

травня 2021 р.). Київ, 2021. С. 110. DOI:
<https://doi.org/10.32345/conf.2021/NMU/Kyiv>

150. Рябовол В.М., Козар Т.І. Дослідження гострої токсичної дії нанопорошків діоксиду титану та його композитів з наносріблом на лабораторних мишах. Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Київ, 16 березня 2022 р.). Київ, 2022. С. 160-162.

151. Zahornyi M., Riabovol V., Tyschenko N., Ragulya A., Zinchenko T. Acute toxicity of titanium dioxide nanopowder and its composites with nanosilver to laboratory mice. Nanoobjects & Nanostructuring (N&N–2022): Proceedings of the 2nd International Research and Practice Conference (Lviv, September 26–28, 2022). Lviv, 2022. P. 43-44.

152. Козар Т.І., Рябовол В.М. Дослідження токсичності нанопорошків діоксиду титану та нанокompозиту діоксиду титану з сріблом та визначення вмісту металів у внутрішніх органах мишей. Актуальні питання гігієни праці та професійної патології: матеріали 57-ї науково-практичної конференції молодих вчених (м. Київ, 24 листопада 2022 р.). Київ, 2022. С. 12-13.

153. Рябовол В.М. Порівняльне токсикологічне дослідження нанокompозитів діоксиду титану, модифікованими різним вмістом наносрібла у гострому експерименті на лабораторних тваринах. Актуальні питання гігієни праці та професійної патології: матеріали 57-ї науково-практичної конференції молодих вчених (м. Київ, 24 листопада 2022 р.). Київ, 2022. С. 40-41.

154. Козар Т.І., Рябовол В.М., Бундзяк О.П. Дослідження вмісту мікроелементів у серці та легенях мишей після введення нанопорошку діоксиду титану та нанокompозиту діоксиду титану з сріблом. Актуальні питання сучасної медицини: тези доповідей XIX Міжнародної наукової конференції студентів, молодих вчених та фахівців (м. Харків, 15-16 грудня 2022 р.). Харків, 2022. С. 177-179.

155. Козар Т.І., Рябовол В.М. Мікроелементи та морфологія печінки мишей за умов гострого впливу наночастинок діоксиду титану та його

нанокомпозиту зі сріблом. Квітнева наукова сесія 2023: матеріали наукової конференції (м. Київ, 17 квітня 2023 р.). Український науково-медичний молодіжний журнал (Спеціальний випуск). Т. 138, № 2. 2023. С. 57. DOI: <https://doi.org/10.32345/USMYJ.SUPPLEMENT.2.2023.5-62>

156. Рябовол В.М., Савосько С.І. Морфологічні зміни тканин внутрішніх органів при гострому впливі нано-TiO₂ і нано-TiO₂-Ag на лабораторних мишей. Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д.мед.н., професора Ю. Б. Чайковського (м. Київ, 8-9 червня 2023 р.). Український науково-медичний молодіжний журнал (Спеціальний випуск). Т. 138, № 2. 2023. С. 138-139.

157. Zalk D.M., Paik S.Y., Swuste P. Evaluating the Control Banding Nanotool: A qualitative risk assessment method for controlling nanoparticle exposures. J Nanopart Res. 2009 № 11. P. 1685-1704. DOI <https://doi.org/10.1007/s11051-009-9678-y>

ДОДАТКИ
ДОДАТОК А
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Загорний М.М., Яворовський О.П., Рябовол В.М., Тищенко Н.І., Лобунець Т.Ф., Томила Т.В., Широков О.В., Рагуля А.В., Анісімов Є.М. Морфологічні, спектральні і токсикологічні особливості нового композитного матеріалу нанодіоксиду титану з наносріблом для використання в медицині та біології. *Медичні перспективи*. 2022. Т. 27, № 1. С. 152-159. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.1.254381>
2. Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М., Демецька О.В. Порівняльна оцінка пошкоджуючої дії наночастинок на основі діоксиду титану на статеві клітини кнурів в експерименті *in vitro*. *Медичні перспективи*. 2022. Т. 27, № 4. С. 13-19. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.4.271117>
3. Яворовський О.П., Андрусишина І.М., Рябовол В.М. Особливості розподілу титану та срібла у внутрішніх органах лабораторних щурів та мишей, експонованих високими дозами наночастинок діоксиду титану та його композиту з наносріблом. *Медичні перспективи*. 2023. Т. 28, № 1. С. 173-178. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.1.276213>
4. Рябовол В.М. Особливості будови, фізико-хімічних і токсикологічних властивостей наночастинок діоксиду титану, одержаного за технологією термічного розкладу (літературний огляд і власні дослідження). *Довкілля та здоров'я*. 2020. № 4 (97), С. 63-70. DOI: <https://doi.org/10.32402/dovkil2020.04.063>
5. Рябовол В.М., Курченко А.І., Яворовський О.П., Савченко В.С., Таран Н.В. Дослідження функціональної активності мононуклеарних клітин крові за продукцією цитокінів під впливом фотоактивних титановмісних

наноматеріалів *in vitro*. *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2021. № 3. С. 23-30. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2021.3-03>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Рябовол В.М., Таран Н.В., Різник К.С. Особливості токсичності та будови нанопорошку діоксиду титану синтезованого методом термічного розкладу. *Advancing in research and Education: Abstracts of XII International Scientific and Practical Conference (La Rochelle, France, December 07 – 10, 2020)*. 2020. С. 267-268. DOI: <https://doi.org/10.46299/ISG.2020.II.XII>

7. Рябовол В.М. Особливості токсичної дії новосинтезованих нанопорошків діоксиду титану та його нанокompозиту з сріблом. *Annual young medical scientist's conference 2020: матеріали міжнародної конференції молодих науковців (м. Київ, 27-28 листопада, 2020)*. Український науково-медичний молодіжний журнал (Спеціальний випуск). Т. 120, № 4. 2020. С. 40. DOI: <https://doi.org/10.32345/USMYJ.120.2020>

8. Рябовол В.М. Дослідження місцево-подразнюючої та сенсibiliзуючої дії нанодіоксиду титану та нанокompозиту діоксиду титану з сріблом в експерименті на лабораторних тваринах. *Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Київ, 17 березня 2021 р.)*. Київ, 2020. С. 155-156.

9. Рагуля А.В., Загорний М.М., Рябовол В.М., Тищенко Н.І. Характеристика будови та токсикологічних властивостей нанопорошків діоксиду титану та його композиту з наносріблом. *Нанотехнології і наноматеріали у фармації та медицині: матеріали V Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (м. Харків, 23 квітня 2021 р.)*. Харків, 2021. С. 70.

10. Демецька О.В., Мовчан В.О., Рябовол В.М. Стабілізація нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером.

Нанотехнології і наноматеріали у фармації та медицині: матеріали V всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (м. Харків, 23 квітня 2021 р.). Харків, 2021. С. 28.

11. Козар Т.І., Рябовол В.М. Дослідження внутрішньоочеревинної та перкутанної токсичності нанопорошків діоксиду титану та нанокompозиту діоксиду титану з сріблом на лабораторних тваринах. *42 Наукові читання імені О.О. Богомольця*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О.О. Богомольця (24 травня 2021 р.). Київ, 2021. С. 110. DOI: <https://doi.org/10.32345/conf.2021/NMU/Kyiv>

12. Zahornyi M., Lavrynenko O., Tyschenko N., Ragulya A., Riabovol V., Zinchenko T. Structural features and toxicological properties of TiO₂/Ag and La₂O₃/Ag nanocomposites. *International Young Scientists Conference on Materials Science and Surface Engineering: Proceedings MSSE2021* (Lviv, September 22-24, 2021). Lviv, 2021. P. 82-84.

13. Рябовол В.М., Козар Т.І. Дослідження гострої токсичної дії нанопорошків діоксиду титану та його композитів з наносріблом на лабораторних мишах. *Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Київ, 16 березня 2022 р.). Київ, 2022. С. 160-162.

14. Zahornyi M., Riabovol V., Tyschenko N., Ragulya A., Zinchenko T. Acute toxicity of titanium dioxide nanopowder and its composites with nanosilver to laboratory mice. *Nanoobjects & Nanostructuring (N&N-2022)*: Proceedings of the 2nd International Research and Practice Conference (Lviv, September 26–28, 2022). Lviv, 2022. P. 43-44.

15. Козар Т.І., Рябовол В.М. Дослідження токсичності нанопорошків діоксиду титану та нанокompозиту діоксиду титану з сріблом та визначення вмісту металів у внутрішніх органах мишей. *Актуальні питання гігієни праці та професійної патології*: матеріали 57-ї науково-практичної конференції молодих вчених (м. Київ, 24 листопада 2022 р.). Київ, 2022. С. 12-13.

16. Рябовол В.М. Порівняльне токсикологічне дослідження нанокompatитів діоксиду титану, модифікованими різним вмістом наносрібла у гострому експерименті на лабораторних тваринах. *Актуальні питання гігієни праці та професійної патології*: матеріали 57-ї науково-практичної конференції молодих вчених (м. Київ, 24 листопада 2022 р.). Київ, 2022. С. 40-41.

17. Козар Т.І., Рябовол В.М., Бундзяк О.П. Дослідження вмісту мікроелементів у серці та легенях мишей після введення нанопорошку діоксиду титану та нанокompatиту діоксиду титану з сріблом. *Актуальні питання сучасної медицини*: тези доповідей XIX Міжнародної наукової конференції студентів, молодих вчених та фахівців (м. Харків, 15-16 грудня 2022 р.). Харків, 2022. С. 177-179.

18. Козар Т.І., Рябовол В.М. Мікроелементи та морфологія печінки мишей за умов гострого впливу наночастинок діоксиду титану та його нанокompatиту зі сріблом. *Квітнева наукова сесія 2023*: матеріали наукової конференції (м. Київ, 17 квітня 2023 р.). Український науково-медичний молодіжний журнал (Спеціальний випуск). Т. 138, № 2. 2023. С. 57. DOI: <https://doi.org/10.32345/USMYJ.SUPPLEMENT.2.2023.5-62>

19. Козар Т.І., Рябовол В.М. Аналіз досліджень антиканцерогенних властивостей комбінації ультрафіолетового випромінювання та наночастинок діоксиду титану на злоякісних культурах клітин. *XI Міжнародний семінар студентів та молодих вчених, присвячений всесвітньому дню боротьби з раком*: (м. Київ, 3 лютого 2023 р.). Український науково-медичний молодіжний журнал (Спеціальний випуск), Т. 137, № 1. 2023. С. 8-9.

20. Рябовол В.М., Козар Т.І. Гігієнічна оцінка важкості праці оператора при виробництві нанопорошку діоксиду титану методом термічного синтезу на багатосекційній обертовій печі. *Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Київ, 15 березня 2023 р.). Київ, 2023. С. 169-170.

21. Рябовол В.М., Козар Т.І., Брухно Р.П. Гігієнічне дослідження параметрів мікроклімату та виробничого шуму на виробництві нанопорошку

діоксиду титану методом термічного синтезу. *Здоров'я для всіх (Health for all): матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю до всесвітнього дня здоров'я 2023 р. та 75-річчя ВООЗ (м. Київ, 6 квітня 2023 р.). Клінічна та профілактична медицина. № 2(24). 2023. С. 107.*

22. Яворовський О.П., В.М. Рябовол, Т.С. Зазуляк. Порівняльна токсиколого-гігієнічна оцінка нових нанопорошків TiO_2 та TiO_2-Ag . *Актуальні проблеми профілактичної медицини та медичної екології: збірник наукових праць до науково-практичної конференції присвяченій пам'яті професора Шафрана Л.М. (м. Львів, 17-18 травня 2023 року). Львів, 2023. С. 102-112.*

23. Рябовол В.М., Савосько С.І. Морфологічні зміни тканин внутрішніх органів при гострому впливі нано- TiO_2 і нано- TiO_2-Ag на лабораторних мишей. *Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д.мед.н., професора Ю. Б. Чайковського (м. Київ, 8-9 червня 2023 р.). Український науково-медичний молодіжний журнал (Спеціальний випуск). Т. 138, № 2. 2023. С. 138-139.*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

24. Демецька О.В., Мовчан В.О., Яворовський О.П., Рябовол В.М., Белюга О.Г. Спосіб стабілізації нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером: пат. 148325 Україна G01N33/18, G01N33/48, B82Y5/00. № u202007215; заяв. 12.11.2020; опубл. 28.07.2021, бюл. № 30/2021. 2 с.

25. Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М., Демецька О.В. Спосіб оцінки токсичності наноматеріалів з використанням як тест-об'єкт сперматозоїдів кнурів *in vitro*: пат. 152744 Україна G01N 33/48, G01N 33/483, G01N 33/50, № u202203484; заяв. 21.09.2022; опубл. 05.04.2023, бюл. №14/2023. 3 с.

26. Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М. Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в

дослідженнях *in vitro*. Методичні рекомендації, затв. начальником лікувально-організаційного управління НАМН України, д.мед.н., проф. І. Шкробанець. Київ, 2023. 4 с.

ДОДАТОК Б
ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Міжнародна науково-практична конференція XII International Scientific and Practical Conference «Advancing in research and Education» (La Rochelle, France, December 07 – 10, 2020), форма участі – публікація тез;
2. Міжнародна конференція молодих науковців 2020 «Annual young medical scientist's conference 2020» (м. Київ, 27-28 листопада, 2020), форма участі – усна доповідь і публікація тез;
3. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини» (м. Київ, 17 березня 2021 р.), форма участі – усна доповідь і публікація тез;
4. V Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Нанотехнології і наноматеріали у фармації та медицині» (м. Харків, 23 квітня 2021 р.), форма участі – публікація тез;
5. Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О.О. Богомольця «42 Наукові читання імені О.О. Богомольця» (м. Київ, 24 травня 2021 р.), форма участі – публікація тез;
6. Міжнародна науково-практична конференція «International Young Scientists Conference on Materials Science and Surface Engineering (MSSE2021)» (Lviv, September 22-24, 2021), форма участі – усна доповідь і публікація тез;
7. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини» (м. Київ, 16 березня 2022 р.), форма участі – усна доповідь і публікація тез;
8. Міжнародна науково-практична конференція 2nd International Research and Practice Conference «Nanoobjects & Nanostructuring (N&N–2022)» (Lviv, September 26–28, 2022), форма участі – постерна доповідь і публікація тез;

9. 57-а Науково-практична конференція молодих вчених «Актуальні питання гігієни праці та професійної патології» (м. Київ, 24 листопада 2022 р.), форма участі – усна доповідь і публікація тез;

10. XIX Міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини» (м. Харків, 15-16 грудня 2022 р.), форма участі – публікація тез;

11. Наукова конференція «Квітнева наукова сесія 2023» (м. Київ, 17 квітня 2023 р.), форма участі – публікація тез;

12. XI Міжнародний семінар студентів та молодих вчених, присвячений всесвітньому дню боротьби з раком (м. Київ, 3 лютого 2023 р.), форма участі – публікація тез;

13. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини» (м. Київ, 15 березня 2023 р.), форма участі – усна доповідь і публікація тез;

14. Науково-практична конференція з міжнародною участю до всесвітнього дня здоров'я 2023 р. та 75-річчя ВООЗ «Здоров'я для всіх (Health for all)» (м. Київ, 6 квітня 2023 р.), форма участі – публікація тез;

15. Науково-практична конференція присвячена пам'яті професора Шафрана Л.М. «Актуальні проблеми профілактичної медицини та медичної екології» (м. Львів, 17-18 травня 2023 року), форма участі – усна доповідь і публікація статті;

16. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д.мед.н., професора Ю. Б. Чайковського «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці» (м. Київ, 8-9 червня 2023 р.), форма участі – публікація тез.

ДОДАТОК В

АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

Директор
Інституту біології тварин НААН
д.б.н., член-кор. НААН

Юрій Салига

“ _____ ” _____ 2023 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Спосіб оцінки токсичності наоматеріалів з використанням як тест-об'єкта сперматозоїдів кнурів *in vitro*» (автори: Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М., Демецька О.В.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** патент України на корисну модель № 152744 UA, опубл. 05.04.2023, Бюл. № 14.
4. **Де і коли впроваджено:** лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії Інституту біології тварин НААН, 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності.
6. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми оцінки токсичності та нормування нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в науково-дослідну роботу та освітній процес. Зауваження відсутні.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії Інституту біології тварин НААН,
доктор сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник

Д. Остапів

Директор
Інституту біології тварин НААН
д.б.н., член-кор. НААН

Юрій Салига

2023 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва пропозиції для впровадження:** «Спосіб стабілізації нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером» (автори: Демецька О.В., Мовчан В.О., Яворовський О.П., Рябовол В.М., Бєлюга О.Г.)
- Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
- Джерело інформації:** патент України на корисну модель № 148325 UA, опубл. 28.07.2021, Бюл. № 30.
- Де і коли впроваджено:** лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії Інституту біології тварин НААН, 2023 р.
- При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності.
- Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми нормування нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
- Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в науково-дослідну роботу та освітній процес. Зауваження відсутні.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії Інституту біології тварин НААН,
доктор сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник

Д.Д. Остапів

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

Інституту біології тварин НААН

д.б.н., член-кор. НААН

Юрій Салига

“ ” _____ 2023 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*» (автори: Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** Методичні рекомендації «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*», Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М. – Київ, 2023 р. – 4 с.
4. **Де і коли впроваджено:** лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії Інституту біології тварин НААН, 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності.
6. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми оцінки токсичності нових нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в науково-дослідну роботу та освітній процес. Зауваження відсутні.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії Інституту біології тварин НААН,
доктор сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник

Д.Д. Остапів

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної та навчальної роботи Національного медичного університету імені

О.О. Богомольця, д. мед. н.,

професор _____ **Власенко О.М.**

“ _____ ” _____ **2023 р.**

М.П.




АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*» (автори: Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** Методичні рекомендації «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*», Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М. – Київ, 2023 р. – 4 с.
4. **Де і коли впроваджено:** кафедра гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** реалізація освітньої та науково-дослідної діяльності.
6. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми оцінки токсичності нових нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в освітній процес та науково-дослідну роботу. Зауваження відсутні.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри гігієни та екології № 2
Національного медичного університету
імені О.О. Богомольця, д. мед. н.,
професор, академік НАМН України

 **О.П. Яворовський**

ЗАТВЕРДЖУЮ

**Т.в.о. директора ДУ «Інститут
 медицини праці імені Ю.І. Кундієва
 Національної академії медичних наук
 України», д.мед.н., професор
 Іщейкін К.Є.**



_____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*» (автори: Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** Методичні рекомендації «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*», Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М. – Київ, 2023 р. – 4 с.
4. **Де і коли впроваджено:** лабораторія промислової токсикології і гігієни праці при використанні хімічних речовин імені академіка НАМН України Трахтенберга Ісаака Михайловича ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва НАМН», 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності.
6. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми оцінки токсичності нових нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в науково-дослідну роботу та освітній процес. Зауваження відсутні.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка лабораторії промислової токсикології
 і гігієни праці при використанні хімічних речовин
 імені академіка НАМН України Трахтенберга Ісаака Михайловича
 ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва НАМН»
 д.б.н., с.н.с.

 Н.М. Дмитруха

ЗАТВЕРДЖУЮ

**Т.в.о. директора ДУ «Інститут
 медицини праці імені Ю.І. Кундієва
 Національної академії медичних наук
 України», д.мед.н., професор**
Ішейкін К.Є.

“ _____ 2023 р.

М.П.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Спосіб стабілізації нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером» (автори: Демецька О.В., Мовчан В.О., Яворовський О.П., Рябовол В.М., Белюга О.Г.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** патент України на корисну модель № 148325 UA, опубл. 28.07.2021, Бюл. № 30.
4. **Де і коли впроваджено:** лабораторія промислової токсикології і гігієни праці при використанні хімічних речовин імені академіка НАМН України Трахтенберга Ісаака Михайловича ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва НАМН», 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності.
6. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми нормування нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в науково-дослідну роботу та освітній процес. Зауваження відсутні.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка лабораторії промислової токсикології
 і гігієни праці при використанні хімічних речовин
 імені академіка НАМН України Трахтенберга Ісаака Михайловича
 ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва НАМН»
 д.б.н., с.н.с.

Н.М. Дмитруха

ЗАТВЕРДЖУЮ

**Т.в.о. директора ДУ «Інститут
медицини праці імені Ю.І. Кундієва
Національної академії медичних наук
України», д.мед.н., професор
Іщейкін К.Є.**



_____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

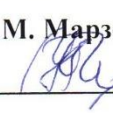
1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Спосіб оцінки токсичності наоматеріалів з використанням як тест-об'єкта сперматозоїдів кнурів *in vitro*» (автори: Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М., Демецька О.В.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** патент України на корисну модель № 152744 UA, опубл. 05.04.2023, Бюл. № 14.
4. **Де і коли впроваджено:** лабораторія промислової токсикології і гігієни праці при використанні хімічних речовин імені академіка НАМН України Трахтенберга Ісаака Михайловича ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва НАМН», 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності.
6. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми оцінки токсичності та нормування нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в науково-дослідну роботу та освітній процес. Зауваження відсутні.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка лабораторії промислової токсикології
і гігієни праці при використанні хімічних речовин
імені академіка НАМН України Трахтенберга Ісаака Михайловича
ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва НАМН»
д.б.н., с.н.с.

 Н.М. Дмитруха

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ДУ «Інститут громадського здоров'я імені О.М. Марзєєва НАМНУ»,
д.мед.н., проф.  Полька Н.С.



_____ 2023 р.

М.П.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*» (автори: Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** Методичні рекомендації «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*», Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М. – Київ, 2023 р. – 4 с.
4. **Де і коли впроваджено:** лабораторія гігієни канцерогенних факторів та наноматеріалів ДУ «Інститут громадського здоров'я імені О.М. Марзєєва НАМНУ», 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності.
6. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми оцінки токсичності нових нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в науково-дослідну роботу та освітній процес. Зауваження відсутні.


Відповідальний за впровадження:

Завідувач лабораторії гігієни канцерогенних факторів та наноматеріалів ДУ «Інститут громадського здоров'я імені О.М. Марзєєва НАМНУ», д.мед.н.



Бабій В.Ф.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ДУ «Інститут громадського здоров'я імені О.М. Марзєєва НАМНУ»,
д.мед.н., проф.  Полька Н.С.



_____ 2023 р.

М.П.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Спосіб стабілізації нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером» (автори: Демецька О.В., Мовчан В.О., Яворовський О.П., Рябовол В.М., Белюга О.Г.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** патент України на корисну модель № 148325 UA, опубл. 28.07.2021, Бюл. № 30.
4. **Де і коли впроваджено:** лабораторія гігієни канцерогенних факторів та наноматеріалів ДУ «Інститут громадського здоров'я імені О.М. Марзєєва НАМНУ», 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності.
6. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми нормування нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в науково-дослідну роботу та освітній процес. Зауваження відсутні.

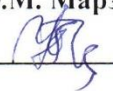
Відповідальний за впровадження:

Завідувач лабораторії гігієни канцерогенних факторів та наноматеріалів ДУ «Інститут громадського здоров'я імені О.М. Марзєєва НАМНУ», д.мед.н.



Бабій В.Ф.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ДУ «Інститут громадського
здоров'я імені О.М. Марзєєва НАМНУ»,
д.мед.н., проф.  Нолька Н.С.

_____ 2023 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Спосіб оцінки токсичності наоматеріалів з використанням як тест-об'єкта сперматозоїдів кнурів *in vitro*» (автори: Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М., Демецька О.В.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** патент України на корисну модель № 152744 UA, опубл. 05.04.2023, Бюл. № 14.
4. **Де і коли впроваджено:** лабораторія гігієни канцерогенних факторів та наноматеріалів ДУ «Інститут громадського здоров'я імені О.М. Марзєєва НАМНУ», 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності.
6. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми оцінки токсичності та нормування нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в науково-дослідну роботу та освітній процес. Зауваження відсутні.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач лабораторії гігієни канцерогенних факторів та наноматеріалів ДУ «Інститут громадського здоров'я імені О.М. Марзєєва НАМНУ», д.мед.н.



Бабій В.Ф.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної та лікувальної роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова

проф. Василь ПОГОРІДИЙ

« _____ » _____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*.
2. **Установа розробник:** кафедра гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (Автори: Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М.).
3. **Джерело інформації:** Методичні рекомендації “Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*”, Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М. – Київ, 2023 р. – 4 с.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра загальної гігієни та екології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.
5. **Форма впровадження:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності під час викладання розділів “Гігієна праці”, “Виробнича токсикологія”.
6. **Термін впровадження:** 2022-2023 навчальний рік.
7. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об’єктивізація з проблеми оцінки токсичності нових нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
8. **Зауваження, пропозиції:** Зауваження відсутні, доцільне подальше впровадження в практику.
9. **Матеріали досліджень та результати їх впровадження** розглянуто на засіданні кафедри гігієни та екології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова 12.06.2022 р. (протокол № 14).

Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри
загальної гігієни та екології
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
д.мед.н., професор



Ігор СЕРГЕТА

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної та лікувальної роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова

проф. Василь ЦОГОРІНИ

« _____ » _____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб стабілізації нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером.
2. **Установа розробник:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (Автори: Демецька О.В., Мовчан В.О., Яворовський О.П., Рябовол В.М., Белюга О.Г.).
3. **Джерело інформації:** Патент України на корисну модель № 148325 UA, опубл. 28.07.2021, Бюл. № 30.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра загальної гігієни та екології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.
5. **Форма впровадження:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності під час викладення розділів “Гігієна праці”, “Виробнича токсикологія”.
6. **Термін впровадження:** 2022-2023 навчальний рік.
7. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об’єктивізація з проблеми нормування нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
8. **Зауваження, пропозиції:** Зауваження відсутні, доцільне подальше впровадження в практику.
9. **Матеріали досліджень та результати їх впровадження** розглянуто на засіданні кафедри гігієни та екології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова 12.06.2022 р. (протокол № 14).

Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри
загальної гігієни та екології
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
д.мед.н., професор



Ігор СЕРГЕТА

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної та лікувальної роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова

проф. Василь ПОГОРІЛИЙ

« _____ » _____ 2023 р.

А К Т В П Р О В А Д Ж Е Н Н Я

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб оцінки токсичності наоматеріалів з використанням як тест-об'єкта сперматозоїдів кнурів *in vitro*.
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (Автори: Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М., Демецька О.В.).
3. **Джерело інформації:** патент України на корисну модель № 152744 UA, опубл. 05.04.2023, Бюл. № 14.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра загальної гігієни та екології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.
5. **Форма впровадження:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності під час викладання розділів "Гігієна праці", "Виробнича токсикологія".
6. **Термін впровадження:** 2022-2023 навчальний рік.
7. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми нормування нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
8. **Зауваження, пропозиції:** Зауваження відсутні, доцільне подальше впровадження в практику.
9. **Матеріали досліджень та результати їх впровадження** розглянуто на засіданні кафедри гігієни та екології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова 12.06.2022 р. (протокол № 14).

Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри
загальної гігієни та екології
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
д.мед.н., професор



Ігор СЕРГЕТА

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького



к.б.н., доц.  Ірина СОЛОНИНКО

«17» 07 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*» (автори: Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** Методичні рекомендації «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*», Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М. – Київ, 2023 р. – 4 с.
4. **Де і коли впроваджено:** кафедра гігієни та профілактичної токсикології ФПДО Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** у навчальний процес слухачів циклів спеціалізації, стажування та тематичного удосконалення спеціальностей «Загальна гігієна», «Лабораторні дослідження факторів навколишнього середовища».
6. **Ефективність впровадження:** покращення підготовки слухачів із актуальних питань профілактичної токсикології, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в освітній процес. Зауваження відсутні.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри гігієни та профілактичної токсикології ФПДО, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького,
к.м.н, доцент



 Оляна ЛОТОЦЬКА-ДУДИК

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького

к.б.н., доц.

Ірина СОЛОНИНКО

«17» 07 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Спосіб стабілізації нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером» (автори: Демецька О.В., Мовчан В.О., Яворовський О.П., Рябовол В.М., Белюга О.Г.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** патент України на корисну модель № 148325 UA, опубл. 28.07.2021, Бюл. № 30.
4. **Де і коли впроваджено:** кафедра гігієни та профілактичної токсикології ФПДО Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** у навчальний процес слухачів циклів спеціалізації, стажування та тематичного удосконалення спеціальностей «Загальна гігієна», «Лабораторні дослідження факторів навколишнього середовища».
6. **Ефективність впровадження:** покращення підготовки слухачів із актуальних питань профілактичної токсикології, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в освітній процес. Зауваження відсутні.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри гігієни та
профілактичної токсикології ФПДО,

Львівського національного

медичного університету імені Данила Галицького.

к.м.н., доцент



Уляна ЛОТОЦЬКА-ДУДИК

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицькогок.б.н., доц.  Ірина СОЛОНИНКО

«17» 07 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Спосіб оцінки токсичності наоматеріалів з використанням як тест-об'єкта сперматозоїдів кнурів *in vitro*» (автори: Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М., Демецька О.В.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** патент України на корисну модель № 152744 UA, опубл. 05.04.2023, Бюл. № 14.
4. **Де і коли впроваджено:** кафедра гігієни та профілактичної токсикології ФПДО Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** у навчальний процес слухачів циклів спеціалізації, стажування та тематичного удосконалення спеціальностей «Загальна гігієна», «Лабораторні дослідження факторів навколишнього середовища».
6. **Ефективність впровадження:** покращення підготовки слухачів із актуальних питань профілактичної токсикології, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в освітній процес. Зауваження відсутні.

Відповідальна за впровадження:

Завідувачка кафедри гігієни та
профілактичної токсикології ФПДО,
Львівського національного
медичного університету імені Данила Галицького,
к.мед.н, доцент



Уляна ЛОТОЦЬКА-ДУДИК

ЗАТВЕРДЖУЮ

проректор з наукової роботи Запорізького
державного медико-фармацевтичного
університету, доктор медичних наук,
професор



 Туманський В.О.

_____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*» (автори: Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** Методичні рекомендації «Новий метод оцінки токсичності наночастинок металів на статевих клітинах кнурів в дослідженнях *in vitro*», Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М. – Київ, 2023 р. – 4 с.
4. **Де і коли впроваджено:** кафедра загальної гігієни, медичної екології та профілактичної медицини Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності.
6. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми оцінки токсичності нових нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в науково-дослідну роботу та освітній процес. Зауваження відсутні.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри загальної гігієни, медичної екології
та профілактичної медицини Запорізького державного
медико-фармацевтичного університету,
кандидат медичних наук, доцент



А.І. Севальнев

ЗАТВЕРДЖУЮ

проректор з наукової роботи Запорізького
державного медико-фармацевтичного
університету, доктор медичних наук,
професор



 Туманський В.О.

_____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Спосіб стабілізації нанопорошків металів та їх похідних глюкозо-цитратним буфером» (автори: Демецька О.В., Мовчан В.О., Яворовський О.П., Рябовол В.М., Белюга О.Г.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** патент України на корисну модель № 148325 UA, опубл. 28.07.2021, Бюл. № 30.
4. **Де і коли впроваджено:** кафедра загальної гігієни, медичної екології та профілактичної медицини Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності.
6. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми нормування нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в науково-дослідну роботу та освітній процес. Зауваження відсутні.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри загальної гігієни, медичної екології
та профілактичної медицини Запорізького державного
медико-фармацевтичного університету,
кандидат медичних наук, доцент



А.І. Севальнєв

ЗАТВЕРДЖУЮ

проректор з наукової роботи Запорізького
державного медико-фармацевтичного
університету, доктор медичних наук,
професор



Туманський В.О.

2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Спосіб оцінки токсичності наоматеріалів з використанням як тест-об'єкта сперматозоїдів кнурів *in vitro*» (автори: Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М., Демецька О.В.)
2. **Запропоновано:** кафедрою гігієни та екології №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
3. **Джерело інформації:** патент України на корисну модель № 152744 UA, опубл. 05.04.2023, Бюл. № 14.
4. **Де і коли впроваджено:** кафедра загальної гігієни, медичної екології та профілактичної медицини Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, 2023 р.
5. **При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція:** реалізація науково-дослідної та освітньої діяльності.
6. **Ефективність впровадження:** удосконалення та об'єктивізація з проблеми оцінки токсичності та нормування нанорозмірних матеріалів, покращення рівня знань та практичних навичок у сфері нанотоксикології.
7. **Зауваження, пропозиції:** рекомендується для впровадження в науково-дослідну роботу та освітній процес. Зауваження відсутні.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри загальної гігієни, медичної екології
та профілактичної медицини Запорізького державного
медико-фармацевтичного університету,
кандидат медичних наук, доцент

А.І. Севальнев