

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 574.64

ДЕЙСТВИЕ ШУНГИТА НА РАКООБРАЗНЫХ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ТОКСИЧНОСТЬ БИХРОМАТА КАЛИЯ

Г.А. Даллакян,
Е.Ф. Исакова,
Д.М. Гершкович

ФГБОУ ВО «Московский
государственный университет
им. М.В. Ломоносова»,
119991, г. Москва, Российская
Федерация

Показано, что при непосредственном контакте с шунгитом (10,00 и 100,00 г/л), а также в присутствии изолированного в диализном мешке шунгита (100,00 г/л), снижается выживаемость и плодовитость дафний по сравнению с контролем за 10 суток наблюдений. Действие шунгита, в частности, связано с механическим повреждением фильтрационного аппарата дафний. Концентрации 0,01 и 0,10 г/л на выживаемость и плодовитость рачков не влияли. В концентрации 0,01 мг/л шунгит снижал токсическое действие бихромата калия в концентрациях 0,005-0,02 г/л как на цериодафний, так и на дафний.

Ключевые слова: Шунгит, *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia affinis*, бихромат калия, выживаемость, плодовитость.

Введение. На сегодняшний день шунгит широко применяется в народной медицине, однако работ, посвященных исследованию его воздействия на биологические объекты, достаточно мало. В настоящее время известен химический состав этого соединения. При этом, в зависимости от места происхождения шунгита, соотношения соединений в его составе меняется. К примеру, химический состав шунгита Зажогинского месторождения по массе (%) содержит: С - 30,0; SiO₂ - 57,0; TiO₂ - 0,2; Al₂O₃ - 4,0; FeO - 0,6; Fe₂O₃ - 1,49; MgO - 1,2; MnO - 0,15; CaO - 0,3; Na₂O - 0,2; K₂O - 1,5; S - 0,2; H₂O - 1,7; с содержанием фуллереноподобных структур от 0,0001 до 0,01 (масс. %) [1]. Фуллерен впервые в шунгите обнаружили в 1992 г. [2]. Шунгит используют в водоочистке для очистки сточных вод от неорганических и органических веществ [3]. Шунгит обладает бактерицидным, каталитическим, сорбцион-

ным, электропроводным и восстановительным свойствами. Показано, что инактивация токсикантов шунгитовой крошкой, при больших концентрациях в воде, происходит согласно механизму физической адсорбции; при концентрациях ниже 0,01 г/л – каталитическому механизму [4]. Биологическую активность шунгита в основном связывают с наличием фуллеренов. Положительные биологические эффекты, которые вызывают малые концентрации фуллерена (10⁻⁹–10⁻⁷ моль/л), связаны с тем, что молекула фуллерена при контакте с водой создает вокруг себя стабильные структуры из упорядоченных гидратных оболочек, которые окружают молекулу C₆₀ [5]. В работе показано что шунгит защищает дафний от токсического действия фенола и меди в течение 96 часов, если растворы этих веществ пропускают через шунгитовые фильтры [6].

Даллакян Генарис Арменакович (Dallakyan Genaris Armenakovich), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991, г. Москва, hopenis@bk.ru
Исакова Евгения Филипповна (Isakova Evgenia Filippovna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991, г. Москва, evgenia_isakova@mail.ru
Гершкович Дарья Михайловна (Gershkovich Darya Michailovna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991, г. Москва, papirus451@yandex.ru

Одновременно есть работы, описывающие токсическое действие фуллеренов на дафний и рыб. Фуллерены, проникая в клетки, ускоряют перекисное окисление липидов у рыб в различных органах. Дафнии погибают в течение суток при концентрациях 0,0005 г/л фуллерена [7].

В настоящее время научные исследования указывают, что токсичность, нейтральность или положительное действие фуллеренов на биологические объекты зависят от способов получения и чистоты этого соединения. Кроме того, из-за высокой реакционной способности фуллеренов, они могут образовать комплексы с другими соединениями, растворенными в воде. Образующиеся комплексы могут быть токсичными для биологических объектов. [5]

Трудно сопоставлять литературные данные, поскольку источники получения фуллерена у большинства авторов различаются. Несомненно, что фуллерен биологически очень активен, и его активность зависит от многих физико-химических факторов. Противоречия, которые содержит ряд научных исследований, на самом деле дополняют друг друга. Дальнейшие исследования взаимодействий в системах «вода-шунгит-биообъекты» необходимы для лучшего понимания механизмов, лежащих в основе описанных эффектов.

Цель работы – исследование влияния шунгита на ракообразных *Daphnia magna* и *Ceriodaphnia affinis* в зависимости от дозы и формы его внесения в среду и определение влияния шунгита на токсичность бихромата калия, как референтного токсиканта.

Материалы и методы исследования. Для проведения исследований использовали синхронные лабораторные культуры *Daphnia magna* Straus и *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. Исследования проводили согласно рекомендациям стандартных методических указаний [8,9,10]. Ракообразных содержали в климатостате при температуре 22-23°C с 12 часовым циклом освещения. Кормление культуры и опытных выборок производили зелеными водорослями *Chlorella vulgaris* Beijer, внося по 1,5 мл концентрированной культуры (плотность культуры не менее $(3,0-3,5) \cdot 10^7$ кл./см³) на 1 литр среды. Для проведения экспериментов и содержания культуры использовали подготовленную водопроводную (биологизированную) воду. В опытах использовали шунгит Зажогинского месторождения от компании Арго и диализные мешки с размером пор 0,45 нм.

При работе с цериодафниями (а также с дафниями в острых испытаниях) необходимые навески шунгита взвешивали и заливали лабораторной водой из расчета 0,01 г/л, 0,10 г/л, 1,00 г/л,

10,00 г/л и 100,00 г/л. Растворы настаивали в течение 2-х суток, затем использовали в экспериментах. В стаканы объемом 100 мл наливали по 50 мл соответствующих растворов в пятикратной повторности и помещали по 4 цериодафнии в возрасте более 24 часа. Все опыты сопровождалось контрольными испытаниями. В хронических опытах длительностью 20 суток у цериодафний учитывали показатели выживаемости и плодовитости. Смену растворов в опытах проводили 2 раза в неделю.

Эксперименты по совместному влиянию шунгита и бихромата калия проводили с концентрациями шунгита 0,01 и 0,10 г/л и серией концентраций бихромата калия от 0,0005 до 0,004 г/л на двух тест-объектах: *D. magna* и *C. affinis*. Продолжительность опытов составила 24-72 часа.

При работе с дафниями в хронических испытаниях молодь (предварительно накормленную) помещали в исследуемые растворы. Каждая линия была исследована в 4 повторностях, на каждую повторность помещали по 5 рачков. На одну особь в хронических опытах приходилось 50 мл среды. В хроническом эксперименте наблюдали изменения линейных размеров, плодовитости и выживаемости рачков. В экспериментах исследовали эффекты воздействия постоянного присутствия шунгита (100,00 г/л) в среде с дафниями, в том числе при воздействии референтного токсиканта бихромата калия в концентрациях 0,0003 и 0,0004 г/л.

Статистическую обработку полученных данных производили в программе Microsoft Office Excel 2010. В качестве критерия достоверности результатов использовали t-критерий Стьюдента (доверительная вероятность $p=0,95$).

Результаты и обсуждение.

Результаты исследований с цериодафниями

Испытания действия шунгита в концентрациях 10,00 и 100,00 г/л на цериодафний выявили острую токсичность этого соединения для рачков, приводившую к гибели всех рачков на 3 и 4 сутки.

В дальнейшем были проведены хронические опыты при содержании шунгита в среде 0,01 г/л, 0,10 г/л и 1,00 г/л (табл.1).

Как видно, шунгит в концентрации 1,00 г/л значительно снижал выживаемость и плодовитость цериодафний.

Испытания с шунгитом в концентрации 0,01 г/л были продолжены для оценки его влияния на продолжительность жизни и плодовитость цериодафний по сравнению с контролем. Результаты хронического опыта на *Ceriodaphnia affinis* представлены в таблице 2 и на рисунке 1. При воздействии шунгита в концентрации 0,01 г/л средняя продолжительность жизни цериодаф-

Таблица 1

Влияние шунгита на жизненные показатели цериодафний за 20 суток

Показатели		Концентрация шунгита (г/л)			
		Контроль	0,01	0,10	1,00
Выживаемость, %		100,00	100,00	90,00	15,00
Плодовитость:	M±m (особей на самку)	30,28±3,53	28,70±0,65	30,28±3,11	12,46±5,01
	% от контроля	100%	92%	100%	41,5%*
	td		1,21		5,37

Примечание: * отличие от контроля статистически достоверно ($P < 0,5$)

Таблица 2

Выживаемость и плодовитость *Ceriodaphnia affinis* при воздействии 0,01 г/л шунгита

Показатель	Контроль	0,01 г/л шунгита
Средняя продолжительность жизни, сутки	38,90±2,90	36,10±2,50 92,90%
Суммарная плодовитость, особей на самку	71,60±4,90	55,70±2,70 77,80%*

Примечание: * – достоверные отличия (t-критерий Стьюдента)

ний снижена на 7%, плодовитость по сравнению с контролем достоверно снижена на 22%.

Для дальнейших исследований по совместному действию бихромата калия и шунгита были отобраны концентрации шунгита 0,01 и 0,10 г/л, не вызывавшие достоверных отклонений величин основных жизненных показателей. Серии острых опытов были проведены на дафниях и цериодафниях.

Результаты свидетельствуют, что растворы, содержащие 0,10 г/л шунгита, слабо влияют на токсичность бихромата калия для обоих видов рачков (табл. 3). В ходе экспериментов с концентрацией шунгита 0,01 г/л выявляются его защитные свойства: ЛК₅₀ для цериодафний в 2-3 раза превышали значения этого показателя

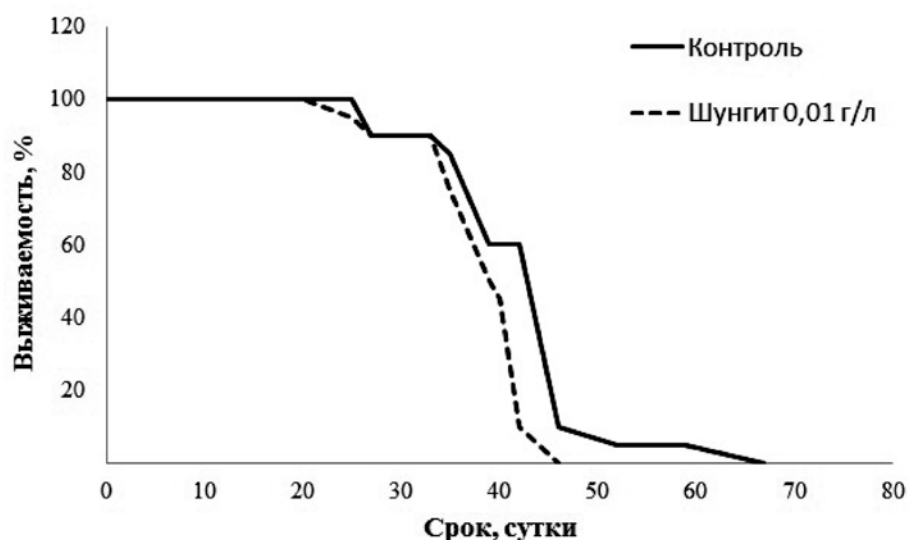


Рис. 1. Выживаемость *Ceriodaphnia affinis* при воздействии 0,01 г/л шунгита

для серии без шунгита. Для дафний так же установлено различие, но эффект менее выражен.

Результаты исследований с дафниями.

В первой серии опытов с дафниями (начало 10.04.2015 г.) исследовали воздействие шун-

Таблица 3

Полулетальные концентрации бихромата калия (мг/л) для *Ceriodaphnia affinis* и *Daphnia magna* в присутствии шунгита

ЛК ₅₀		Варианты воздействий		
		Бихромат калия (мг/л)	Бихромат калия + Шунгит (0,01 г/л)	Бихромат калия + Шунгит (0,10 г/л)
<i>Ceriodaphnia affinis</i>	24 ч	2,78	4,00	3,08
	48 ч	1,33	2,38	1,35
	72 ч	0,93	1,33	0,91
<i>Daphnia magna</i>	24 ч	0,74	1,24	0,71
	72 ч	0,68	1,20	-

Таблица 4

Влияние шунгита на выживаемость и плодовитость *Daphnia magna* при воздействии бихромата калия

Показатели		Воздействие			
		Контроль	Шунгит, 100,00 г/л	Бихромат калия, 0,0003 г/л	Шунгит (100,00 г/л) + Бихромат калия (0,0003 г/л)
Выживаемость, %	на 5 сутки	100,00	30,00	100,00	10,00
	на 11 сутки	100,00	5,00	70,00	0,00
	на 12 сутки	100,00	0,00	25,00	0,00
Плодовитость за 1 помет, % от контроля		100,00	14,70	51,50	0,00

гита (100,00 г/л) при постоянном присутствии в среде, в том числе при воздействии 0,0003 г/л бихромата калия). В этой серии опытов замену среды не производили.

Опыт был завершен на 12 сутки после получения 1 помета в контроле в связи с полной гибелью ракообразных (табл. 4).

В течение первой серии опытов наблюдали гибель ракообразных (начиная с 5 суток) в присутствии шунгита. Вероятно, это происходило вследствие механического воздействия на дафний минеральных частиц шунгита, при их попадании в фильтрационный аппарат и кишеч-

ник дафний. Совокупное воздействие шунгита и бихромата калия вызывало более выраженное снижение жизненных показателей, чем их раздельное воздействие.

Во второй серии опытов (начало 25.11.2015 г.) исследовали постоянное воздействие шунгита (100,00 г/л), в том числе, и в комбинации с бихроматом калия в концентрации 0,0004 г/л. Для исключения механического воздействия частиц шунгит помещали внутрь диализных мешков. Замену среды производили через день.

В этой серии воздействие шунгита и бихромата калия оказывало статистически достоверное

Таблица 5

Влияние шунгита, изолированного в диализном мешке (100 г/л), на выживаемость и плодовитость *Daphnia magna* при воздействии бихромата калия (0,0004 г/л)

Показатели		Воздействие				
		Контроль	Шунгит (в диализном мешке)	Бихромат калия, (в растворе)	Шунгит (в диализном мешке) и бихромат калия (в растворе)	Шунгит и бихромат калия (все в диализном мешке)
Выживаемость, %	на 9 сут.	100,00	90,00	45,00	20,00	55,00
	на 12 сут.	100,00	0,00	35,00	0,00	5,00
	на 20 сут.	100,00	0,00	5,00	0,00	0,00
Плодовитость за 3 помета, % от контроля		100,00	0,00	0,00	0,00	32,60

влияние на выживаемость, плодовитость и размеры тела ракообразных (табл. 5).

Совместное воздействие шунгита и бихромата калия вызывало более выраженный эффект, чем их раздельное воздействие.

Для оценки влияния присутствия диализного мешка был проведен опыт длительностью 27 суток, в котором присутствие диализного мешка не оказало статистически достоверного влияния на рост (линейные размеры) и выживаемость ракообразных.

Представленные результаты испытаний показали, что при непосредственном контакте с шунгитом, а также в присутствии изолированного в диффузионном мешке шунгита (100 г/л) выживаемость и плодовитость дафний достоверно снижается. С целью предотвращения воздействия на фильтрационный аппарат ракообразных в дальнейшем исследовали воздействие воды, постоянно на шунгите. Хронические опыты на цериодафниях позволили установить концентрации шунгита, при которых не снижалась выживаемость и плодовитость рачков (0,01 и 0,10 г/л). Совместное действие шунгита и бихромата калия в сериях опытов на ракообразных выявило, что шунгит только в минимальной из исследованных концентраций 0,01 г/л снижал эффект бихромата калия как на цериодафний, так и на дафний.

В ранее опубликованных результатах, полученных на микроводорослях, было установлено, что шунгит в концентрациях 100,00 г/л инактивировал токсическое действие бихромата калия во время роста популяции водорослей, и стимулировал рост водорослей [11]. Таким образом,

одни и те же концентрации шунгита могут стимулировать рост одних организмов и подавлять развитие других.

Токсическое действие шунгита, возможно, связано с тем, что при высоких концентрациях ионов переменной валентности и фуллеренов, эти соединения проникают в клетки ракообразных и инициируют перекисное окисление липидов клеточных мембран, приводящие к их гибели [7]. Острая токсичность при концентрации шунгита 100,00 г/л. в основном связана с механическим повреждением фильтрационного аппарата дафний, засорением его взвесью, что видно при микроскопировании.

Одним из возможных механизмов защиты ракообразных от токсического действия бихромата калия в присутствии шунгита (концентрации от 0,01 до 0,10 г/л) является переход шестивалентного хрома в менее токсичный трехвалентный: $K_2Cr_2 + {}^{60}O_7 + Sh \rightarrow Cr_2 + {}^{3}Sh$, где Sh – активные соединения, входящие в состав шунгита (ионы переменной валентности, фуллерены и др. соединения), восстанавливающие бихромат калия и снижающие его токсичность. Кроме того, могло иметь место связывание молекул или ионов бихромата компонентами шунгита. При высоких концентрациях (0,10 – 100,00 г/л) подавляющее действие шунгита на ракообразных превосходит эффект защиты от воздействия бихромата калия.

Заключение. Результаты представленного исследования свидетельствуют о том, что шунгит способен оказывать угнетающий и губительный эффект на ракообразных как за счет механиче-

ского действия, так и за счет токсичности экстрагируемых из него компонентов. Вместе с тем, в малых концентрациях он может снижать токсичность такого токсиканта, как бихромат калия, путем связывания ионов или их преобразования.

Более подробное исследование влияния шунгита представляет интерес в аспекте

очистки воды для питьевых, рыбохозяйственных и других хозяйственных целей. Однако, длительное использование шунгита в оздоровительных целях при различных недугах человека требует более тщательных исследований, так как может оказать отрицательное воздействие на различные органы в отдаленный период.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ignatov I., Mosin O.V. The structure and composition of carbonaceous fullerene containing mineral shungite and microporous crystalline aluminosilicate mineral zeolite // Nanotechnology Research and Practice. 20Vol.№ 1. PP. 30–42.
 2. Buseck P.R. Tsipursky, S.J., Hettich R. Fullerenes from the geological environment // Science. 19Vol. 2№ 50PP. 215–217.
 3. Калинин Ю. К. Экологический потенциал шунгита // Материалы Первой Всероссийской научно-практической конференции 2006 г. под редакцией д.т.н. Ю.К. Калинина «Шунгиты и безопасность жизнедеятельно-

сти человека». Петрозаводск, 2007.
 4. Skorobogatova G. A., Goncharov G. H., Ashmarova Yu. A. Ионобменные и адсорбционные свойства карельских шунгитов, контактирующих с водой // Экологическая химия. 20Т. №С. 10–15.
 5. Andrievsky, G.V. Klochkov, V.K. Derevyanchenko. L.I. Is c60 fullerene molecule toxic? // Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. 20Vol. Issue PP. 363–3
 6. Отчет о научно-исследовательской работе «Разработка научно-методических основ использования природных минеральных сорбентов (кремней) для улучшения качества питьевой воды, усиления ее биологическо-

го действия». Интернет издание. Available at: <http://alfapol.ru/uluchshenie-kachestva-pitevoy-vodi/>
 7. Oberdorster E. Toxicity of nC60 fullerenes to two aquatic species: Daphnia and largemouth bass//The 227th ACS National Meeting, Anaheim, CA, March 28-April 1, 2004, Abs. IEC 21
 8. Методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение / Под ред. О. Ф. Филенко, С. А. Соколовой. М.: ВНИРО, 19145 с.
 9. Жмур Н. С. Методика определения

токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. 2-е изд., испр. и доп. М.: АКВАРОС, 2052 с.
 10. Жмур Н. С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. 2-е изд., испр. и доп. М.: АКВАРОС, 2056 с.
 11. Даллакян Г. А., Погосян С. И., Ипатова В. И., Агеева И. В. Инактивация токсического действия бихромата калия шунгитом в присутствии микроводорослей // Токсикологический вестник 5, 39-44, 2014.

REFERENCES:

1. Ignatov I., Mosin O.V. The structure and composition of carbonaceous fullerene containing mineral shungite and microporous crystalline aluminosilicate mineral zeolite//Nanotechnology Research and Practice. 20Vol.No. PP. 30–42.
 2. Buseck P.R. Tsipursky, S.J., Hettich R. Fullerenes from the geological environment // Science. 19Vol. 2No. 50PP. 215–217.
 3. Kalinin YU.K. Ecological potential of a shungity // Materials of the First All-Russian scientific and practical conference of 2006 under edition the Dr.Sci.Tech. Yu.K. Kalinin "Shungite and a safety of human activity". Petrozavodsk,

2007 (in Russian).
 4. Skorobogatova G. A., Goncharov G. N., Ashmarova Yu. A. Ion-exchange and adsorptive properties of the Karelian shungit contacting to water // Ecological chemistry. 20T. No. PP. 10–16 (in Russian).
 5. Andrievsky, G.V. Klochkov, V.K. Derevyanchenko. L.I. Is c60 fullerene molecule toxic? // Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. 20Vol. Issue PP. 363–3
 6. Report on research work "Development of scientific and methodical bases of use of natural mineral sorbents (flints) for improvement of quality of drinking water, strengthening of its biological effect".

Internet edition. Available at: <http://alfapol.ru/uluchshenie-kachestva-pitevoy-vodi/>
 7. Oberdorster E. Toxicity of nC60 fullerenes to two aquatic species: Daphnia and largemouth bass//The 227th ACS National Meeting, Anaheim, CA, March 28-April 1, 2004, Abs. IEC 21
 8. Methodical instructions on establishment of ecological-fishery standards (maximum concentration limit) the polluting substances for water of the water objects having fishery value / Under the editorship of O. F. Filenko, S. A. Sokolova. M.: VNIRO, 19145 pages (in Russian).
 9. Zhmur N. S. A technique of determination of toxicity of water and water

extracts from soils, rainfall of sewage, waste on mortality and change of fertility of Daphnia magna. 2nd prod., additional M.: AKVAROS, 2052 pages (in Russian).
 10. Zhmur N. S. A technique of determination of toxicity of water and water extracts from soils, rainfall of sewage, waste on mortality and change of fertility of Ceriodaphnia affinis. 2nd prod., ispr. and additional M.: AKVAROS, 2056 pages (in Russian).
 11. Dalakyan G. A., Pogoyan S. I., Ipatova V. I., Ageeva I. V. Inaktivatsy of toxic effect of bichromate of potassium shungity in the presence of microseaweed // The Toxicological bulletin. 20№5, PP. 39-44 (in Russian).

G.A. Dallakyan, E.F. Isakova, D.M. Gershkovich

SHUNGITE ACTION ON CRUSTACEANS AND ITS INFLUENCE ON POTASSIUM DICHROMATE TOXICITY

M.V. Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russian Federation

It is shown that at the direct contact with shungite (10.00 and 100.00 g/l) as well as in the presence of shungite isolated on the dialysis sac (100.00 g/l), the survival and fertility of *Daphnia magna* decrease as compared to the control during 10 days of observation. Shungite effect is inter alia linked to a mechanical failure of *Daphnia magna* filtration apparatus. Concentrations of 0.01 and 0.10 g/l did not affect crustacean survival and fertility. Shungite in the centration of 0.01 g/l lowered toxic effect of potassium in concentrations of 0.005-0.02 g/l on both *Ceriodaphnia* and *Daphnia magna*.

Keywords: *Shungite, Daphia magna, Ceriodaphnia affinis, potassium dichromate, survival, fertility.*

Материал поступил в редакцию 18.07.2016 г.