

ОТЗЫВ

официального оппонента

доктора биологических наук Чурилова Геннадия Ивановича
на диссертацию Гусева Александра Анатольевича

«Экотоксикологические характеристики высокодисперсного кристаллического углерода», представленную в диссертационный совет Д 212.074.07 при ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биологические науки)

Актуальность. В диссертационной работе А.А. Гусева проведена комплексная оценка эколого-биологических эффектов многостенных углеродных нанотрубок (МУНТ). Углеродные нанотрубки известны своими уникальными механическими, электрическими и термическими свойствами, пригодными для широкого спектра применения, вследствие чего производство данного наноматериала активно развивается. Увеличение масштабов производства МУНТ неизбежно приведет к их накоплению в объектах окружающей среды. Кроме того, углерод в микро- и нанодисперсной форме может поступать в окружающую среду в результате ряда природных и техногенных процессов (лесные пожары, извержения вулканов, использования углеводородного топлива на электростанциях и транспорте и т.д.). Таким образом, исследование влияния МУНТ на представителей различных эколого-функциональных групп является весьма актуальным.

Научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы. Научная новизна работы заключается в разработке методологии экологической оценки МУНТ, включая применение средств объективного контроля их содержания в средах, а также экспериментальная модель поступления МУНТ в биообъекты посредством создания водных суспензий. Впервые методом концептуального моделирования оценен уровень потенциальной опасности МУНТ. Разработана и проведена комплексная оценка эколого-биологических эффектов МУНТ с использованием представителей различных эколого-функциональных групп организмов. Показаны различия в биологических эффектах, связанные с особенностями структуры углеродных материалов на примере сажи (технического углерода по ГОСТ 7885-86) и МУНТ.

В ходе исследования обнаружено бактерицидное действие УНМ на тест-объектах *E. coli*, *B. cereus* и биосенсоре «Эколум» (*E. coli* M-17), при этом в ряде случаев отмечен нелинейный дозозависимый эффект воздействия МУНТ. Выявлено, что наиболее устойчивым к изучаемому

фактору из исследованных бактерий и гидробионтов являются личинки насекомых *Ch. riparius* и ракообразные *C. affinis*. Установлена безопасная концентрация НМ в водной среде, составляющая 2 мг/л для микроводоросли *Sc. quadricauda*. На политенных хромосомах *Ch. riparius* обнаружен выраженный цитогенетический эффект МУНТ. Впервые установлен факт биоаккумуляции МУНТ в тканях растений на примере *O. arenaria*, что расширяет существующие представления о механизмах воздействия НЧ на живые организмы и возможности переноса МУНТ в пищевых цепях. Впервые отмечены гепатотоксический, нефротоксический, пневмотоксический эффекты, а также репродуктивная токсичность МУНТ при субхроническом пероральном введении коллоидного водного раствора лабораторным мышам в среднесуточных дозировках от 0,3 мг/кг и более. Созданы научно-методические основы для определения пределов толерантности биообъектов по отношению к МУНТ и разработки экологически обоснованных норм их содержания в средах. Большинство предлагаемых методов является экспрессными и доступными широкому кругу исследователей, что обуславливает практическую и теоретическую значимость работы.

В рамках проведения исследований разработаны объекты интеллектуальной собственности: база данных «Биобезопасность наноматериалов» (свид. № 2011620488 от 29.06.2011 г.) – ноу-хау «Способ ультразвуковой обработки многокомпонентных смесей» (свид. №2012-0002 от 17.09.2012 г.), «Способ приготовления водных суспензий высокодисперсных материалов с использованием ультразвуковой обработки» (свид. №2013-0002 от 19.06.2013 г.). Опубликовано два учебно-методических пособия. Выполнен ряд поддержанных НИР.

Результаты исследований по теме диссертации были обсуждены на многочисленных российских и международных научных мероприятиях.

Материалы диссертации достаточно подробно изложены в работах, опубликованных Гусевым А.А., и могут быть использованы для развития теоретических основ биологической индикации окружающей среды и экологической токсикологии.

Цель и задачи. Грамотно сформулированные задачи позволили Гусеву А.А. достичь поставленной цели, а именно, в ходе работы исследовано влияние МУНТ на представителей различных эколого-функциональных групп для формирования методических рекомендаций по установлению пределов толерантности и оценке устойчивости организмов к данному фактору природно-техногенного происхождения в лабораторных условиях.

Содержание работы. В первой главе автором проведен аналитический обзор значительного числа литературных источников по тематике исследования, в результате которого выявлены пробелы существующих научных знаний.

В главе «Материалы и методы исследований» описан используемый в работе углеродный высокодисперсный материал (образцы МУНТ марки «Таунит») приведены тест-объекты, включающие представителей разных систематических групп, что позволило наиболее полно оценить экологические эффекты МУНТ, а также выбраны обоснованные методы исследований и современная приборная база, которые подтверждают достоверность полученных результатов.

В главе 3 проведена идентификация материала как МУНТ и его структурная характеристика методами просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии. При помощи спектрометрического экспресс-анализа содержания НЧ в атмосфере показана способность перехода МУНТ в аэрозольное состояние в ходе их синтеза. Для получения стабильных коллоидных растворов автор использовал ультразвуковую обработку, что позволило не применять стабилизаторы, которые могли повлиять на результаты экспериментов. Контроль качества коллоидных систем проводился методом динамического светорассеяния с оценкой размера и ζ -потенциала НЧ. По результатам экспериментальных исследований свойств полученных суспензий УНМ установлено, что в водных суспензиях наиболее легко диспергируются углеродные нанотрубки с меньшим диаметром и большей удельной поверхностью. Для биологических экспериментов были выбраны образцы образующие наиболее стабильные суспензии.

В четвертой главе автором определена степень потенциальной опасности

МУНТ методом концептуального моделирования. Моделирование является важным этапом исследования биологических эффектов оказываемых наноматериалами, позволяющее провести первичную оценку безопасности.

В пятой главе диссертационной работы приведены результаты исследования влияния МУНТ на бактерий и гидробионтов. По полученным данным установлено, что исследуемый материал является умеренно опасным веществом. В целом, за исключением показавших нелинейные концентрационные эффекты тестов на бактериях *E. coli* и *B. cereus* и теста на выживаемость *Ch. riparius*, проявившего низкую

чувствительность, использованные в разделе методы применимы для проведения экологической экспресс-оценки УНМ.

В главе 6 показаны результаты оценки способности МУНТ проникать и накапливаться в тканях растений и сопутствующие морфофизиологические и биохимические эффекты. Несмотря на отсутствие выраженных дозозависимых эффектов, наличие достоверных изменений энергии прорастания, всхожести, морфометрических характеристик, активности ферментов антиоксидантной системы и фитогормонов, а также содержания растительных пигментов, начиная с самых низких концентраций МУНТ, делает эти параметры перспективными для использования в экологической оценке УНМ.

В ходе анализа патофизиологических, гистологических и репродуктивных эффектов МУНТ на лабораторных мышах (глава 7) установлено, что МУНТ в среднесуточных дозировках 0,3 – 30 мг/кг при пероральном поступлении не вызывает повышения уровня летальности мышей. В субхроническом исследовании отмечены дозозависимые эффекты, включая изменение массы тела, нарушение гормонального статуса, уменьшение индекса оплодотворяющей способности и повреждающее воздействие на печень, почки и легкие. В ходе острого и подострого экспериментов не было отмечено случаев гибели животных ни в одной из групп. Лабораторные мыши традиционно являются модельным объектом, используемым в экотоксикологии, фармакологии и экспериментальной медицине. Поэтому анализ воздействия МУНТ на мышей является важным элементом системы оценки экологической безопасности данного материала как для природных популяций грызунов, играющих ключевую роль в ряде наземных экосистем, так и по отношению к домашним животным и человеку.

В главе 8 определены тест-объекты и тест-функции организмов, применимые для разработки экологически обоснованных норм воздействия МУНТ на биообъекты.

Таким образом, используемые в работе методы исследования показали достаточную чувствительность и избирательность, что делает целесообразным их дальнейшее использование при проведении экологической оценки УНМ.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций. Автором на высоком научном уровне используются различные подходы и методы обоснования полученных результатов, выводов и рекомендаций, изучаются и критически анализируются результаты работ других авторов по оценке эколого-биологических

эффектов высокодисперсных углеродных материалов. Список использованной литературы содержит 293 источника, в том числе 174 на иностранных языках. Выводы и результаты, полученные диссертантом, обоснованы и достоверны, так как опираются на результаты анализа обширного статистического материала и существующую теоретико-методологическую базу.

Однако, несмотря на имеющиеся многочисленные достоинства работы, в ней обнаруживаются и отдельные недостатки, которые серьезно не влияют на представленные выводы и результаты.

1. В работе имеется ряд технических недочетов, в частности опечатки, отсутствуют подписи названия оси ОУ на рисунке 32, на 204 странице не указан номер и др.

2. С чем связан выбор каталазы, пероксидазы и полифенолоксидазы в качестве показателей биохимического статуса растений?

3. Содержатся ли в исследуемом наноматериале примеси? Если да, то как они могли повлиять на полученные результаты?

4. В качестве пожелания, было бы интересно проследить сохранение эффектов на растения в условиях полевого эксперимента.

5. Также было бы интересно понаблюдать переход МУНТ в пищевой цепи – высшие растения – млекопитающие.

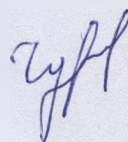
Впрочем, отмеченные недостатки не снижают высокого качества исследования, не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации, описанные выше. Результаты работы оригинальны, обладают научной новизной и практически значимы, демонстрируют вклад автора в область исследования эколого-биологических эффектов углеродных наноматериалов.

Диссертация Гусева Александра Анатольевича «Оценка экологических эффектов нанокристаллического углерода на примере многостенных углеродных нанотрубок» является научно-квалификационной работой, в которой решена важная научная проблема исследования влияния абиотических факторов на живые организмы в природных и лабораторных условиях с целью установления пределов толерантности и оценки устойчивости организмов к внешним воздействиям, что можно квалифицировать как научное достижение.

Диссертационная работа соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утв. Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748), а ее

автор, Александр Анатольевич Гусев заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология.

Официальный оппонент
профессор кафедры общей и фармацевтической химии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Рязанский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доктор биологических наук, доцент
(специальность 03.02.08 – Экология)



Г.И. Чурилов

Адрес: 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д.9.
e-mail: genchurilov@yandex.ru
тел.: 8(4912) 505730; 8(4912) 460877

Подпись руки Г.И. Чурилова заверяю:
ректор ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России,
д.м.н., профессор

