

УДК 543.552.054.1

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА И ЗОЛОТА В ЖИВЫХ КЛЕТКАХ

*Ю.А. Сунцова, Е.Л. Поморцева, Н.А. Малахова,
А.И. Матерн, А.Н. Козицина*

Аннотация

Количественное определение наночастиц золота в клеточном материале может быть использовано для оценки потенциальных рисков, связанных с их применением. Предложен способ электрохимического определения поглощения наночастиц клеточными культурами на основе инверсионной вольтамперометрии на электродах из графитовых материалов. Пределы обнаружения составили 2.6 и 0.4 мкг/дм³ для золота(III) и серебра(I) соответственно. Найден корреляционные зависимости между количеством поглощенных наночастиц клетками, временем инкубации клеток с наночастицами и природой клеток и наночастиц. Оценено влияние наночастиц на жизнеспособность клеточных культур.

Ключевые слова: инверсионная вольтамперометрия, клеточные культуры, наночастицы благородных металлов.

Введение

В последнее десятилетие наблюдается лавинообразный рост числа публикаций, посвященных применению наночастиц для диагностики и лечения различных (в том числе онкологических) заболеваний. Показано, в частности, что наночастицы серебра обладают бактерицидными свойствами [1–3], а наночастицы золота повышают эффективность фототермической терапии опухолей [4].

Наноматериалы с успехом используются в химических и биохимических сенсорах [5–7]. Эти факты свидетельствуют о том, что нанотехнологии, долгое время находившиеся почти исключительно в поле зрения материаловедения, сейчас активно внедряются в аналитическую химию, биологию и медицину.

Однако активное внедрение наноматериалов в клиническую медицину требует глубокого знания потенциальных рисков и побочных эффектов, сопряженных с использованием этих материалов. За последнее десятилетие установлено, что наночастицы различных видов, особенно наночастицы металлов, попадая в организм человека, могут стать причиной серьезных заболеваний. Известно, что существует три основных пути попадания наночастиц в организм человека: кожа [8], легкие [9] и желудочно-кишечный тракт [10]. Наночастицы легко проникают в клетки и различные внутриклеточные органеллы (ядро, митохондрии и др.) [11]. Выяснение причин токсического действия наночастиц на живой организм и разработка способов борьбы с заболеваниями, вызванными проникновением в организм наночастиц, становятся предметом нового направления

в экспериментальной медицине: токсикологии наноматериалов. Развитие этого весьма важного направления нуждается в информации о взаимосвязи между содержанием наноматериалов в клетках и различными биологическими параметрами. Решение этой проблемы невозможно без развития методов количественного определения концентрации наночастиц в биологических объектах.

Поглощение наночастиц серебра мезенхимальными стволовыми клетками человека, клетками моноцитов и лимфоцитов (Т-клетки) исследовали методом проточной цитометрии [12–14]. Тот же метод применяли для обнаружения наночастиц диоксида титана TiO_2 (5, 23, 5000 нм) и оксида железа (Fe_3O_4), поглощенных живыми клетками [12]. Исследования показали, что поглощение частиц клетками зависит от дозы, времени, размера наночастиц и заполнения ими поверхности клетки.

Количественная оценка поглощения наночастиц золота липосомами клеточной культуры HeLa проведена методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой [15]. Метод использован для исследования доставки наночастиц к живым клеткам.

Используемые в приведенных работах методы количественного определения наночастиц дорогостоящи и требуют предварительного концентрирования определяемых элементов в образце.

Альтернативой указанным подходам являются электрохимические методы, в частности метод инверсионной вольтамперометрии, позволяющий определять концентрацию ионов металлов на уровне нмоль/л [16]. Для определения следовых концентраций серебра и золота обычно используют углеродсодержащие электроды [17]. Однако на электродах из пирографита и импрегнированного спектрального графита регистрируются несколько пиков растворения сконцентрированного на нем серебра [18], что затрудняет обработку вольтамперограмм и ухудшает воспроизводимость измерений. Один острый пик растворения серебра получен при использовании вращающегося дискового электрода из стеклоглерода [19] в кислых (0.01 М H_2SO_4), нейтральных (0.05 М KNO_3) и аммиачных (0.05 NH_4OH + 0.05 М NH_4NO_3) растворах. Электрохимическое концентрирование проводили при потенциале -0.6 В (отн. нас. х.с.э.). В качестве оптимального электролита авторы рекомендуют аммиачный раствор, в котором зависимость тока растворения серебра от концентрации его ионов в растворе линейна в интервале 10^{-9} – 10^{-6} М, погрешность не превышала 5%.

Для определения золота используют импрегнированный графитовый электрод и бромидсодержащие фоновые электролиты [20]. При этом обеспечивается наиболее высокая чувствительность, правильность и воспроизводимость результатов измерений. В качестве оптимальных выбраны следующие условия: фоновый электролит – 0.5 М HBr + 0.1 М KBr , потенциал предварительного электролиза -0.5 В, время электролиза 1–5 мин. Минимальная определяемая концентрация золота после электрохимического накопления в течение 5 мин составляет 10 мкг/дм³ [20]. Однако использование вращающегося дискового электрода из стеклоглерода в бромидных растворах не представляется возможным, поскольку окисление бромидов искажает пик растворения золота [21].

Работы, посвященные определению благородных металлов методом инверсионной вольтамперометрии в биообъектах, практически не встречаются. Известна лишь работа [22], в которой с помощью метода дифференциально-импульсной вольтамперометрии определяли серебро(I). Рабочими электродами служили углеродный микроэлектрод или графитовый стержень. Авторы использовали метод для оценки влияния ионов серебра(I) на растительные клетки (tobacco BY-2) и ткань пресноводных живородящих рыб гуппи (*Poecilia reticulata*). Показано, что содержание серебра(I) в тканях рыб возрастает с увеличением времени инкубации и концентрации наночастиц. Недостатком используемого метода является высокий предел обнаружения серебра, составляющий 0.5 мкмоль/дм^3 .

Целью настоящего исследования явились разработка методов количественного определения концентрации наночастиц серебра и золота, поглощенных живыми клетками, оценка динамики изменения этой концентрации в клетках и установление взаимосвязи концентрации наночастиц с жизнеспособностью и функциональной активностью клеток.

1. Экспериментальная часть

1.1. Материалы и реактивы. Использовали нитрат аммония, бромид калия, 30%-ный раствор перекиси водорода, 25%-ный раствор гидроксида аммония, цитрат натрия, H_2SO_4 , HCl , HBr , AgNO_3 , HNO_3 квалификации «ч.д.а.» российского производства. Растворы ионов металлов были приготовлены из государственных стандартных образцов (ГСО) состава водных растворов ионов серебра(I) и золота(III) с аттестованным значением концентрации 1 и 0.1 мг/см^3 соответственно путем разбавления ГСО растворами 0.1 М HNO_3 (для серебра) и 2 М HCl (для золота). Деионизированная вода, используемая для приготовления растворов, получена с помощью комбинированной мембранной установки серии ДВС-М/1НА(18)-N (Россия).

Исследования проводили на культуре клеток L20B, созданной на основе мышинной линии L-клеток, в которую экспрессированы человеческие рецепторы к полиовирусу, и на культуре эмбриональных человеческих клеток легких WI-38 (клетки эмбрионального легкого человека, трансформированного вирусом SV-40).

Клетки L20B предоставлены лабораторией вирусологии МУ Клинико-диагностического центра (г. Екатеринбург). Клеточная культура WI-38 предоставлена межрегиональной общественной научной организацией «Ассоциация специалистов по клеточным культурам» (г. Санкт-Петербург).

Для культивирования клеточных культур использовали питательную среду ИГЛА МЕМ с солями Эрла, 10%-ный раствор эмбриональной телячьей сыворотки крови, стерильный глутамин и гентамицин (4%) в качестве антибиотика. Снятие клеток с культуральных флаконов проводили с помощью 0.25%-ного раствора Трипсина и раствора Версена. Раствор трипанового синего применяли для окрашивания клеточных культур.

1.2. Приборы и методы эксперимента. В электрохимических исследованиях использовали вольтамперометрический комплекс 639 VA Processor в комплекте с 694 VA Stand и 700 Dosino (производство Metrohm, Швейцария).

Определение благородных металлов проводили методами анодной инверсионной вольтамперометрии (ИВ) с дифференциально-импульсной и квадратно-волновой развертками потенциала при скорости сканирования потенциала 0.02 и 0.24 В/с соответственно.

Дифференциальные импульсные вольтамперограммы регистрировали при следующих условиях: амплитуда импульса 50 мВ, длительность импульса 40 мс, шаг потенциала 6 мВ. Параметры квадратно-волновой регистрации: частота модуляции 100 Гц, амплитуда импульса 20 мВ, продолжительность ступени 0.05 с, время измерения 2 мс, шаг потенциала 12 мВ. В качестве аналитического сигнала (АС) использовали величину тока.

Применяли стандартную трехэлектродную электрохимическую ячейку. В качестве рабочих электродов использовали стеклоуглеродный (СУ) электрод диаметром 2 мм (Metrohm AG, Швейцария) и толстопленочный углеродсодержащий электрод (ТУЭ) (ООО «ИВА», Россия). Площадь рабочей поверхности СУ составляла 0.07 см², ТУЭ – 0.06 см². Для подготовки поверхности СУ к анализу использовали предварительную полировку поверхности порошком оксида алюминия (зерна 0.3 мкм). Стеклоуглеродный стержень и хлоридсеребряный лабораторный электрод с двойным мостиком использовали в качестве вспомогательного электрода и электрода сравнения соответственно.

Скорость вращения рабочего электрода на стадиях концентрирования и очистки составляла 3000 об/мин. Все результаты получены без деаэрации растворов.

1.3. Подготовка биологического материала. Наночастицы серебра (30–40 нм) и золота (12–14 нм), полученные стандартным методом химического восстановления водных растворов HAuCl_4 и AgNO_3 цитратом натрия [23], вводили в питательную среду в виде суспензии в деионизированной воде в двух концентрациях: начальной цитотоксичной [24, 25] концентрации и избыточной – 10 и 25 мг/дм³.

Суспензии наночастиц в питательной среде, содержащей гентамицин (15 см³), вводили в исследуемую культуру клеток. Смесь клеток с наночастицами инкубировали в планшетах 24 ч, затем среду, содержащую наночастицы, удаляли и заменяли ее свежей, не содержащей наночастиц. Культуру клеток с новой средой оставляли на 120 ч. Образцы клеток анализировали после 24 и 120 ч инкубации.

Для оценки жизнеспособности клеток, их отмывали после инкубации фосфатным буферным раствором и добавляли раствор трипанового синего. Подсчитывали общее количество клеток, а также количество живых (неокрашенных) и мертвых (окрашенных) клеток.

1.4. Процедура разложения проб. Подготовка проб к ИВ-анализу. Для разрушения органической составляющей пробы использовали метод мокрого озоления. Для этого культуру клеток переносили из пластиковой пробирки в термостойкий стакан объемом 25 см³, используя 5 см³ деионизированной воды. Прибавляли по 0.3 см³ концентрированных серной и азотной кислот, выдерживали смесь в течение 15 мин и выпаривали на плитке до объема примерно 1 см³. Охлаждали, добавляли воду до общего объема примерно 5 см³, нагревали на плитке до появления белых паров и выпаривали еще 8–10 мин до влажных

солей. Процедуру повторяли. Охлаждали, добавляли 3–5 см³ воды и 0.3 см³ 30%-ного раствора пероксида водорода. Выпаривали до влажных солей. Охлаждали, добавляли 3–5 см³ воды и снова выпаривали до влажных солей. Пробы, содержащие ионы серебра, охлаждали и количественно переносили остаток в мерную колбу объемом 10 см³, используя азотную кислоту (0.1 моль/дм³).

К пробам, содержащим ионы золота, добавляли 5 см³ раствора царской водки (1 часть азотной кислоты и 3 части хлористоводородной кислоты) и выпаривали до объема примерно 0.5 см³. Полученный раствор количественно переносили в мерную колбу объемом 10 см³, используя 1 М раствор хлористоводородной кислоты.

2. Результаты и их обсуждение

2.1. Количественное определение концентрации наночастиц серебра и золота. Для определения серебра(I) методом анодной инверсионной вольтамперометрии в качестве фонового раствора использовали 0.05 М NH₄OH + 0.05 М NH₄NO₃. Предварительное концентрирование серебра(I) на поверхности СУ проводили при потенциале –0.6 В [19]. Вольтамперограммы регистрировали в интервале от –0.50 до 0.50 В. Регенерацию электрода проводили при потенциале 0.5 В в течение 10 с. В указанных условиях линейная зависимость АС от концентрации ионов серебра (I) сохраняется в диапазоне 2–25 и 25–250 мкг/дм³ при времени накопления 120 и 10 с соответственно.

Золото(III) определяли на фоне 1 М КВг + 0.03 М НВг методом анодной дифференциально-импульсной инверсионной вольтамперометрии [20]. Вольтамперограммы регистрировали в интервале от –0.20 до 0.68 В. Регенерацию рабочего электрода проводили при потенциале 0.68 В в течение 10 с. Начальный потенциал анодной развертки составлял –0.2 В для минимизирования дополнительного осаждения золота во время регистрации вольтамперограммы в катодной области потенциалов. Дополнительное осаждение способствует повышению пика анодного тока, но приводит к ухудшению воспроизводимости.

С использованием импрегнированного графита в качестве рабочего электрода не удалось зарегистрировать воспроизводимый АС золота в описанных в работе [20] условиях. Хорошо выраженный АС был получен при использовании ТУЭ. Однако и в этом случае при потенциале предварительного концентрирования –0.5 В, рекомендуемом в работе [20], не удалось получить линейной зависимости величины пиков тока от концентрации золота (III).

Зафиксированная в этих условиях зависимость величины пиков тока от концентрации золота(III) имеет линейный характер в диапазоне концентраций 10–100 и 5–100 мкг/дм³ при потенциалах накопления –0.7 и –0.9 В соответственно и времени накопления 120 с. В дальнейшей работе использовали потенциал накопления –0.9 В, поскольку в этом случае удастся снизить минимальную определяемую концентрацию ионов золота(III) в два раза.

Аналитические характеристики определения серебра и золота представлены в табл. 1. Как видно из таблицы, предложенный способ может быть применен для определения следовых количеств рассмотренных металлов в биологических образцах. Относительное стандартное отклонение, полученное для серии из 9 повторяющихся измерений сигнала, не превышает 4%. Правильность

Табл. 1

Аналитические характеристики определения ионов металлов методами квадратно-волновой анодной инверсионной вольтамперометрии со стеклоуглеродным электродом (для серебра(I)) и дифференциально-импульсной инверсионной вольтамперометрии с толстопленочным углеродсодержащим электродом (для золота(III))

	Уравнение регрессии ^a ($n = 24$)	r^b	X_d^c (мкг/дм ³)	$S_R, \%$ ($n = 9$)	Правильность ($n = 5, P=0.95$)
Ag	$y = (0.501 \pm 0.002)x - (0.036 \pm 0.023)$	0.9996	0.4	3.6 (при 10 мкг/л)	104% для 5 мкг/л ($5.2 \pm 0.4, \%$ $S_R = 6.2$)
Au	$y = (0.009 \pm 0.00005)x - (0.007 \pm 0.003)$	0.9990	2.6	3.4 (при 20 мкг/л)	97% для 10 мкг/л ($9.7 \pm 0.3, \%$ $S_R = 3.5$)

^a y – аналитический сигнал (мкА), x – концентрация ионов металлов (мкг/л).

^b r – коэффициент корреляции.

^c X_d – предел обнаружения.

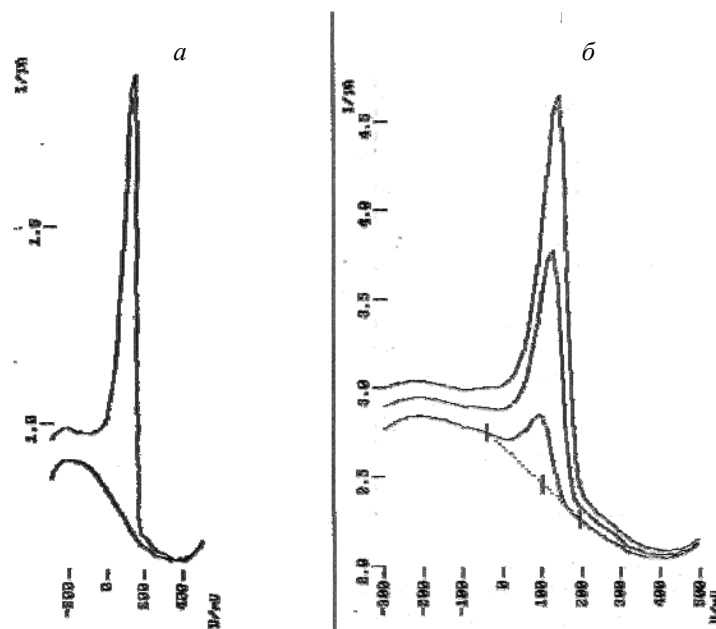


Рис. 1. Квадратно-волновые вольтамперограммы серебра, зарегистрированные с использованием СУ при анализе минерализата клеток: *a* – контрольный опыт, *б* – минерализат клеток после инкубации в течение 1 сут с 15 см³ раствора, содержащего 150 мкг наночастиц металлов. Условия эксперимента: фоновый электролит – 0.05 М NH₄OH + 0.05 М NH₄NO₃, $E_{\text{нак}}$ –0.6 В, время накопления 90 с, скорость развертки потенциала 0.24 В/с

определения близка к 100% с хорошей воспроизводимостью ($S_R = 6.2\%$ при 5 мкг/дм³ Ag и 3.5% при 10 мкг/дм³ Au).

На рис. 1 и 2 в качестве примера приведены вольтамперограммы серебра(I) и золота(III), зарегистрированные при анализе минерализата клеток в контрольном опыте (*a*) и минерализата клеток после инкубации в течение 1 сут с 15 см³ раствора, содержащего 150 мкг наночастиц металлов (*б*).

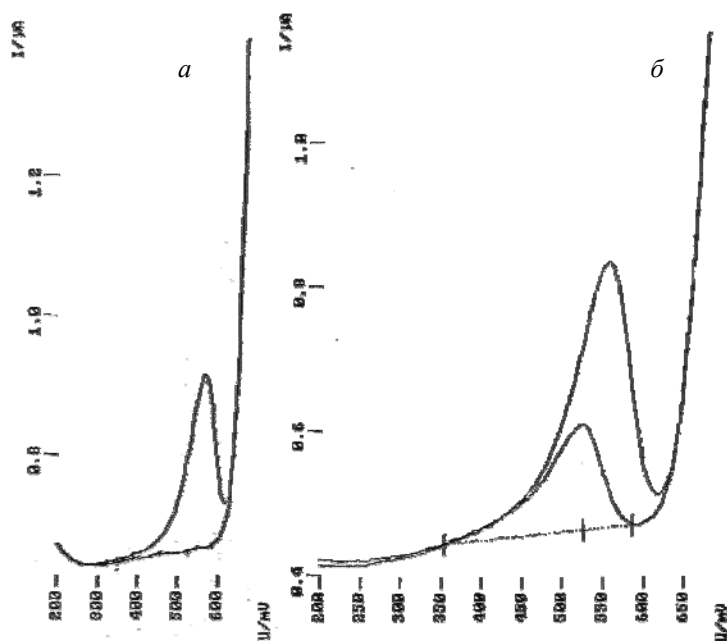


Рис. 2. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы золота зарегистрированные с использованием ТУЭ при анализе минерализата клеток: *a* – контрольный опыт, *б* – минерализат клеток после инкубации в течение 1 сут с 15 см³ раствора, содержащего 150 мкг наночастиц металлов. Условия эксперимента: фоновый электролит – 1 М КВг + 0.03 М НВг, $E_{\text{нак}} -0.9$ В, время накопления 120 с, скорость развертки потенциала 0.02 В/с

Табл. 2

Содержание ионов серебра(I) и золота(III) в минерализате культур клеток WI-38 и L20B после инкубации с наночастицами серебра и золота.

Культура клеток	Наночастицы	Концентрация наночастиц в суспензии, мкг/мл	Содержание ионов металлов в клетках после инкубации, мкг/г	
			Время инкубации, ч	
			24	120
WI-38	Ag	10	7.70	7.40
		25	33.50	5.45
	Au	10	39.00	20.0
		25	76.93	170.67
L20B	Ag	10	0.780	0.72
		25	4.151	2.8
	Au	10	33.63	11.56
		25	45.60	35.31

2.2. Исследование поглощения наночастиц Au и Ag клеточными культурами. В табл. 2 представлены результаты определения содержания серебра(I) и золота(III) в минерализате клеток после их инкубации с наночастицами. Из таблицы видно, что содержание ионов металлов в клеточных культурах тем больше, чем выше концентрация исходной суспензии наночастиц.

Табл. 3

Результаты оценки жизнеспособности клеток WI-38 в условиях воздействия различных наночастиц в течение 120 ч

Наночастицы	Концентрация наночастиц в суспензии, мкг/мл	Общее количество клеток	Доля погибших клеток, %
Ag	Контрольный образец	17	18.84
	10	10	32.56
	25	11	36.95
Au	Контрольный образец	21	23.47
	10	11	37.77
	25	11	66.67

Табл. 4

Результаты оценки жизнеспособности клеток L20B в условиях воздействия различных наночастиц в течение 120 ч

Наночастицы	Концентрация наночастиц в суспензии, мкг/мл	Общее количество клеток	Доля погибших клеток, %
Ag	Контрольный образец	53	13.77
	10	40	15.17
	25	41	14.69
Au	Контрольный образец	53	13.21
	10	65	24.61
	25	54	31.48

Однако после 120 ч инкубации наблюдается уменьшение содержания как серебра, так и золота в клетках, что указывает на выведение ионов металлов в межклеточное пространство, за исключением клеток WI-38, в которых наблюдается накопление ионов золота при контакте с суспензией, содержащей 25 мкг/см³ металла в исходной суспензии, в течение 120 ч.

Поглощения золота и серебра клетками различных культур заметно отличаются. Так, при воздействии наночастиц серебра в одинаковой концентрации серебра в одинаковой концентрации эпитиальные клетки человека WI-38 поглощают в 10 раз больше металла, чем мышьяная культура L20B.

При инкубации клеток одной культуры с суспензией наночастиц серебра и золота в одинаковой концентрации количество поглощенных наночастиц различно. Клетки WI-38 и клетки L20B поглощают в большей степени наночастицы золота, чем серебра.

В табл. 3 и 4 приведены данные об оценке влияния наночастиц на жизнеспособность клеточных культур.

В процессе инкубации жизнеспособность контрольных образцов исследуемых клеточных линий менялась незначительно (максимальное снижение до 76% наблюдалось в случае клеток WI-38).

Из табл. 3 видно, что наночастицы серебра оказывают значительное влияние на культуру эмбриональных человеческих клеток. При взаимодействии клеток с наночастицами серебра в концентрациях 10 и 25 мкг/см³ доля живых клеток составила 67.44% и 63.05% соответственно.

В случае мышинной линии клеток L20B инкубация с наночастицами серебра в различной концентрации не вызывает значимого изменения доли мертвых клеток по сравнению с контрольным образцом. Например, при воздействии наночастиц в концентрации 25 мкг/см³ содержание серебра в клетках в 2.5 раза превышало содержание серебра при взаимодействии клеток с наночастицами в минимальной концентрации. Тем не менее снижение жизнеспособности в том и другом случае равнозначно и незначительно. Меньшее воздействие наноматериала на мышиную линию клеток L20B по сравнению с клеточной линией человека WI-38 может быть обусловлено различием их строения, а следовательно, способностью к эндоцитозу.

Влияние золотых наночастиц на клеточные линии гораздо более выражено, чем влияние наночастиц серебра. Из табл. 2 и 3 видно наличие прямой корреляции между поглощением золота и долей погибших клеток. Инкубация с наночастицами в максимальной концентрации вызывает трехкратное увеличение доли мертвых клеток WI-38. На мышинных клетках L20B также наблюдается (табл. 4) корреляция между поглощением наночастиц золота и влиянием их на жизнеспособность.

Таким образом, предложены методики определения концентрации серебра и золота в биологических объектах – клетках. Показана взаимосвязь между выживаемостью клеток и концентрацией наночастиц, поглощенных ими. Поглощение и выведение металлов из клеточного материала зависят от природы наночастиц, их исходной концентрации и времени инкубации.

Полученные результаты исследования жизнеспособности вышеназванных клеточных культур при воздействии на них наночастиц благородных металлов свидетельствуют о том, что человеческие клетки WI-38 менее устойчивы к воздействию наночастиц золота и серебра, чем клетки L20B.

Результаты исследования могут служить основой для разработки норм допустимых концентраций наночастиц металлов в окружающей среде.

Авторы выражают благодарность за помощь в планировании эксперимента, обсуждении и интерпретации полученных результатов доктору химических наук, профессору Х.З. Брайниной, а также за помощь в проведении анализа жизнеспособности клеточных линий доктору медицинских наук, профессору Я.Б. Бейкину и сотрудникам МУ Клинико-диагностического центра (г. Екатеринбург).

Summary

Yu.A. Suntsova, E.L. Pomortseva, N.A. Malakhova, A.I. Matern, A.N. Kozitsina. An Electrochemical Method for Determination of the Concentration of Silver and Gold Nanoparticles in Living Cells.

Quantification of Au nanoparticles in cell cultures can be used for the estimation of potential risks arising from their applications. A novel method has been proposed for the electrochemical determination of nanoparticles adsorbed by living cells on the basis of stripping voltammetry on electrodes made of graphite materials. The detection limits are 2.6 and 0.4 mg/dm³ for gold(III) and silver(I), respectively. The correlation between the number of nanoparticles absorbed by cells, the time of incubation of cells with nanoparticles and the nature of cells and nanoparticles has been determined. The influence of nanoparticles on the vitality of cell cultures has been estimated.

Key words: stripping voltammetry, cell cultures, nanoparticles of noble metals.

Литература

1. Kim J.S., Kuk E., Yu K.N., Kim J.-H., Park S.J., Lee H.J., Kim S.H., Park Y.K., Park Y.H., Hwang C.-Y., Kim Y.-K., Lee Y.-S., Jeong D.H., Cho M.-H. Antimicrobial effects of silver nanoparticles // *Nanomed.-Nanotechnol.* – 2007. – V. 3, No 1. – P. 95–101.
2. Singh M., Singh S., Prasad S., Gambhir I. S. Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles // *Dig. J. Nanomater. Biostruct.* – 2008. – V. 3, No 2. – P. 115–122.
3. Parameswari E., Udayasoorian C., Paul Sebastian S., Jayabalakrishnan R.M. The bactericidal potential of silver nanoparticles // *Int. Res. J. Biotechnol.* – 2010. – V. 1, No 3. – P. 044–049.
4. Li J.-L., Gu M. Gold-nanoparticle-enhanced cancer photothermal therapy // *IEEE J. Sel. Top. Quant. Electron.* – 2010. – V. 16, No 4. – P. 989–996.
5. Shtykov S.N., Rusanova T.Yu. Nanomaterials and nanotechnologies in chemical and biochemical sensors: Capabilities and applications // *Russ. J. General Chem.* – 2008. – V. 78, No 12. – P. 2521–2531.
6. El-Ansary A., Faddah L. Nanoparticles as biochemical sensors // *Nanotechnol. Sci. Appl.* – 2010. – No 3. – P. 65–76.
7. Haick H. Chemical sensors based on molecularly modified metallic nanoparticles // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2007. – V. 40, No 23. – P. 7173–7186.
8. Zhang L.W., Yu W.W., Colvin V.L., Monteiro-Riviere N.A. Biological interactions of quantum dot nanoparticles in skin and in human epidermal keratinocytes // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2008. – V. 228, No 2. – P. 200–211.
9. Rogueda P.G., Trainj D. The nanoscale in pulmonary delivery. Part 1: deposition, fate, toxicology and effects // *Expert Opin. Drug Deliv.* – 2007. – V. 4, No 6. – P. 595–506.
10. Vega-Villa K.R., Takemoto J.K., Yáñez J.A., Remsberg C.M., Forrest M.L., Davies N.M. Clinical toxicities of nanocarrier systems // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2008. – V. 60, No 8. – P. 929–938.
11. Stone V., Johnston H., Clift M.J. Air pollution, ultrafine and nanoparticle toxicology: cellular and molecular interactions // *IEEE Trans. Nanobiosci.* – 2007. – V. 6, No 4. – P. 331–340.
12. Suzuki H., Toyooka T., Ibuki Y. Simple and easy method to evaluate uptake potential of nanoparticles in mammalian cells using a flow cytometric light scatter analysis // *Environ. Sci. Technol.* – 2007. – V. 41, No 8. – P. 3018–3024.
13. Greulich C., Diendorf J., Simon T., Eggeler G., Eppler M., Köller M. Uptake and intracellular distribution of silver nanoparticles in human mesenchymal stem cells // *Acta Biomater.* – 2011. – V. 7, No 1. – P. 347–354.
14. Greulich C., Diendorf J., Geßmann J., Simon T., Habijan T., Eggeler G., Schildhauer T.A., Eppler M., Köller M. Cell type-specific responses of peripheral blood mononuclear cells to silver nanoparticles // *Acta Biomater.* – 2011. – V. 7, No 9. – P. 3505–3514.
15. Chithrani D.B., Dunne M., Stewart J., Allen C., Jaffray D.A. Cellular uptake and transport of gold nanoparticles incorporated in a liposomal carrier // *Nanomed.-Nanotechnol.* – 2010. – V. 6, No 1. – P. 161–169.
16. Брайнина Х.З., Нейман Е.Я. Твердофазные реакции в электроаналитической химии. – М.: Химия, 1982. – 264 с.
17. Выдра Ф., Штулик К., Юлакова Э. Инверсионная вольт амперометрия. – М.: Мир, 1980. – 278 с.

18. *Eisner U., Mark H.B.* The anodic stripping voltammetry of trace silver solutions employing graphite electrodes application to silver analysis of rain and snow samples from silver iodide seeded clouds // *J. Electroanal. Chem.* – 1970. – V. 24, No 2–3. – P. 345–355.
19. *Kopanica M., Vydra F.* Voltammetry with disc electrodes and its analytical application: II. Anodic stripping voltammetry of trace concentrations of silver and copper employing a glassy carbon electrode // *J. Electroanal. Chem.* – 1971. – V. 31, No 1. – P. 175–181.
20. *Захарчук Н.Ф., Бихматова Г.С., Юделевич И.Г.* Определение микроколичества золота методом инверсионной вольтамперометрии на графитовом электроде // Заводская лаборатория. – 1971. – Т. 37. – С. 531–533.
21. *Petak P., Vydra F.* Determination of gold in raw materials using anodic stripping voltammetry // *Collect. Czech. Chem. Comm.* – 1974. – V. 39. – P. 943–948.
22. *Krizkova S., Krystofova O., Trnkova L., Hubalek J., Adam V., Beklova M., Horna A., Havel L., Kizek R.* Silver(I) ions ultrasensitive detection at carbon electrodes—analysis of waters, tobacco cells and fish tissues // *Sensors.* – 2009. – V. 9, No 9. – P. 6934–6950.
23. *Крутяков Ю.А., Кудринский А.А., Оленин А.Ю., Лисичкин Г.В.* Синтез и свойства наночастиц серебра: достижения и перспективы // *Усп. химии.* – 2008. – Т. 77, Вып. 3. – С. 242–269.
24. *Carlson C., Hussain S.M., Schrand A.M., Braydich-Stolle L.K., Hess K.L., Jones R.L., Schlager J.J.* Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species // *J. Phys. Chem.* – 2008. – V. 112, No 43. – P. 13608–13619.
25. *Van Sprang P.A., Janssen C.R.* Toxicity identification of metals: development of toxicity identification fingerprints // *Environ. Toxicol. Chem.* – 2001. – V. 20, No 11. – P. 2604–2610.

Поступила в редакцию
23.04.12

Сунцова Юлия Александровна – кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии Уральского федерального университета им. Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург.

E-mail: glazira1@yandex.ru

Поморцева Екатерина Львовна – аспирант Уральского государственного экономического университета, г. Екатеринбург.

E-mail: ekaterina.pomortseva@yandex.ru

Малахова Наталья Александровна – кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии Уральского федерального университета им. Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург.

E-mail: n.a.malahova@ustu.ru

Матерн Анатолий Иванович – доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии, первый проректор Уральского федерального университета им. Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург.

E-mail: a.i.matern@ustu.ru

Козицина Алиса Николаевна – кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии Уральского федерального университета им. Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург.

E-mail: Alisa-Kozitsina@yandex.ru