

## **Inovativní sanační technologie ve výzkumu a praxi VII**

# **Hodnocení toxicity vybraných nanočástic na biologické činitele**

Mgr. Petra Škodová

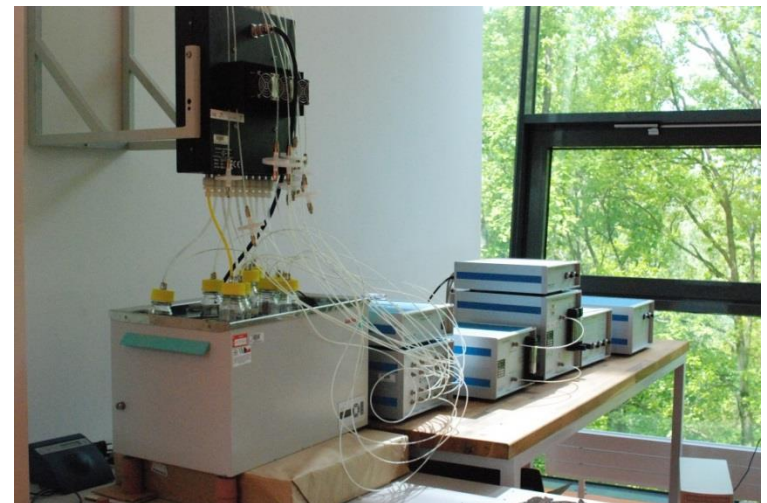
Praha 15. 10. 2014

# Nanočástice

- Použití nanočástic (NPs) ↑
- Nebezpečí NPs: velikost a tvar
- První interakce s biologickým materiálem:
  - NPs – buněčná membrána
- Zapojeny v mnoha katalytických nebo oxidačních reakcích poměr povrch-objem pro nanomateriály větší než pro běžné sypké materiály
- Žádné standardizované metody pro hodnocení toxicity nanočástic

# Použité metody pro hodnocení vlivu nanočástic na *E. coli* a *P. aeruginosa*

- Respirometrie
- Fluorescenční mikroskopie – metoda živých/mrtvých buněk (LIVE/DEAD<sup>®</sup> BacLight<sup>™</sup> Bacterial Viability Kit)
- Stanovení KTJ/ml
- Růstová křivka - absorbance při 600 nm
- Testované nanočástice: diamanty, TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, Bi, Ce, Pb a Pr
- Začátek experimentu s nanočásticemi Ag

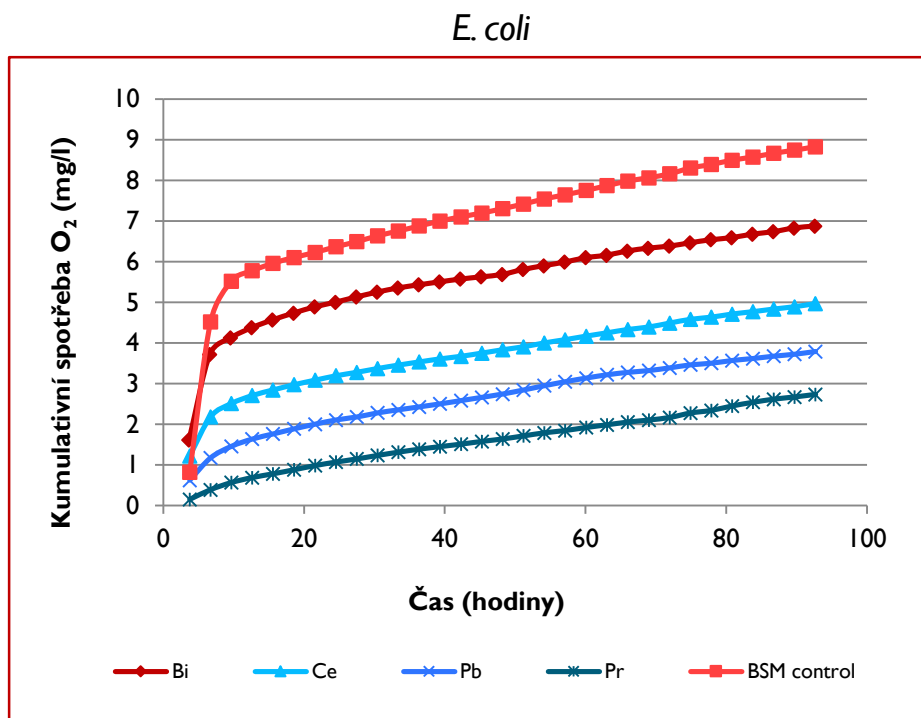


# Použité modelové organismy

- *Escherichia coli* – fakultativně anaerobní bakterie, optimum pH 6 – 8 a 37 °C
- *Pseudomonas aeruginosa* – striktně aerobní bakterie, optimum 37 °C, patogen pro člověka
- *Sinapis alba* – hořčice bílá, hodnocení vlivu nanočástic na klíčivost semen

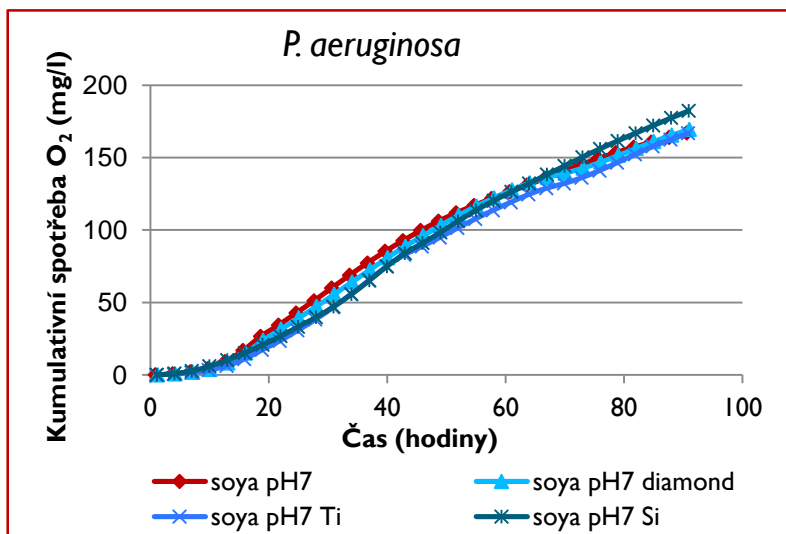
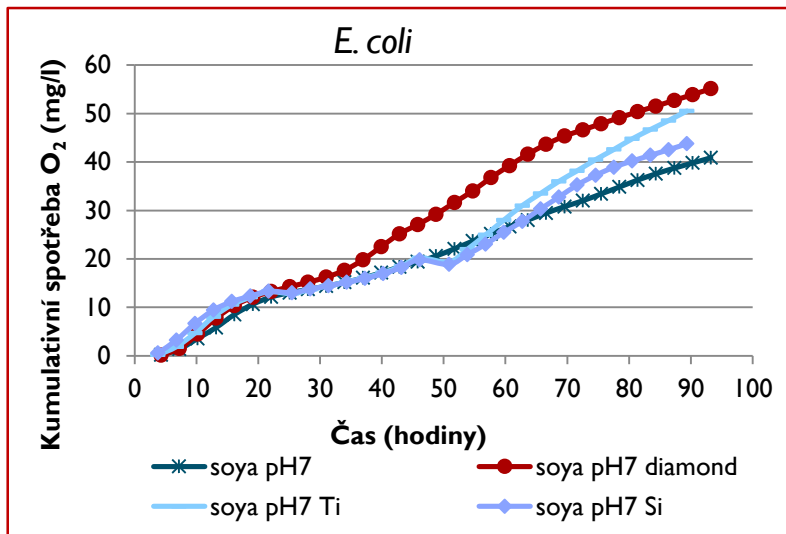
# Výsledky respirometrie pro nanočástice Bi, Ce, Pb a Pr

- Vliv těchto NPs testován pouze na *E. coli*
- BSM médium
- Kumulativní spotřeba kyslíku v mg/l



vzorek	Max. spotřeba O <sub>2</sub> <i>E. coli</i> (%)
BSM pH7 (kontrola)	100
BSM pH7 Bi	79
BSM pH7 Ce	56
BSM pH7 Pb	43
BSM pH7 Pr	31

# Překvapivé výsledky z respirometrického měření

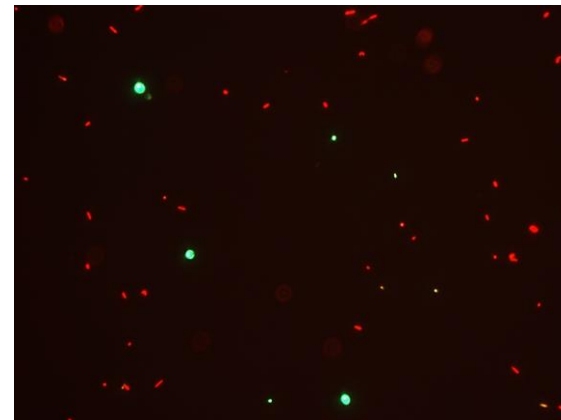
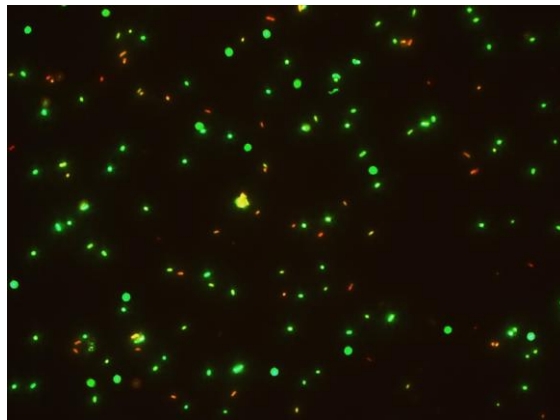


vzorek	Max. spotřeba O <sub>2</sub> (%) <i>E. coli</i>
soja pH7 (kontrola)	100
soja pH7 diamant	135
soja pH7 Ti	124
soja pH7 Si	107

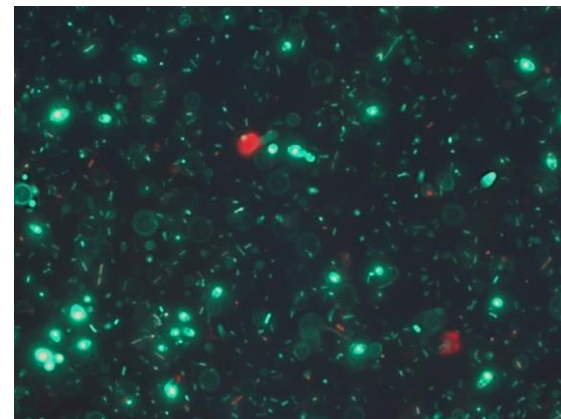
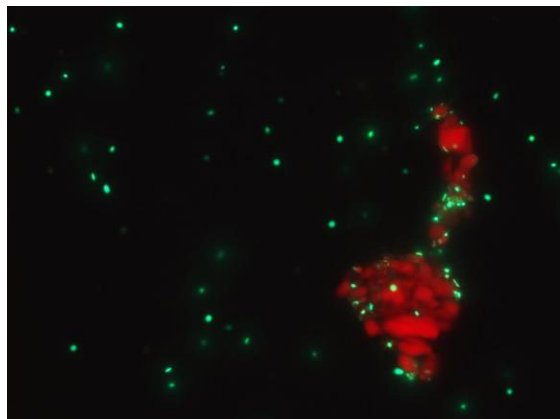
vzorek	Max. spotřeba O <sub>2</sub> (%) <i>P. aeruginosa</i>
soja pH7 (kontrola)	100
soja pH7 diamant	101
soja pH7 Ti	100
soja pH7 Si	109

# Fluorescenční mikroskopie

- Fluorescenční analýza živých a mrtvých buněk pomocí LIVE/DEAD BacLight Bacterial viability kitu
- Snímky pořízeny 1. a 5. den experimentu



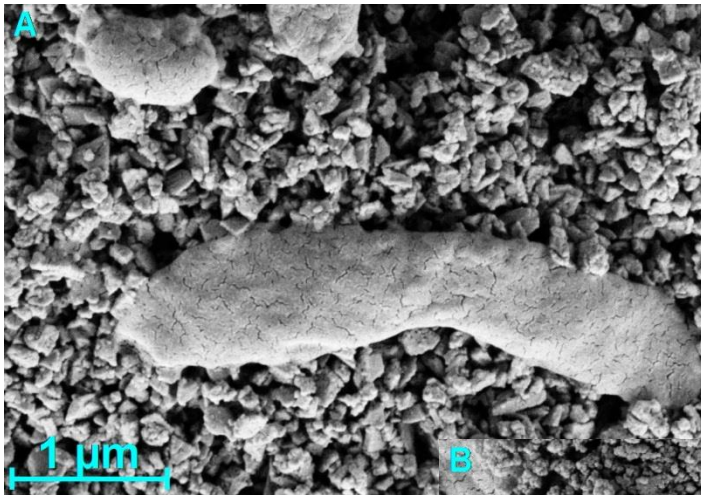
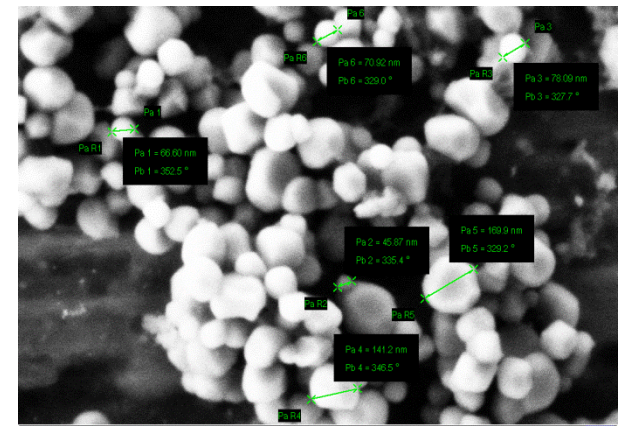
*E. coli* + Bi  
1. den (vlevo)  
5. den (vpravo)



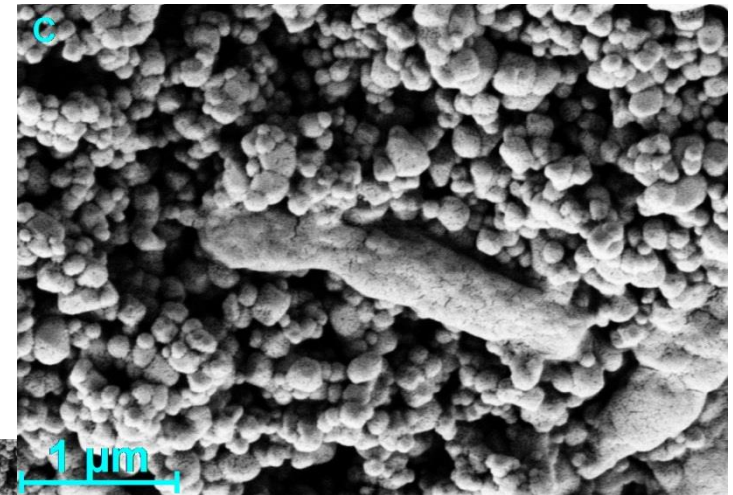
*E. coli* + SiO<sub>2</sub>  
1. den (vlevo)  
5. den (vpravo)

# SEM mikroskopie

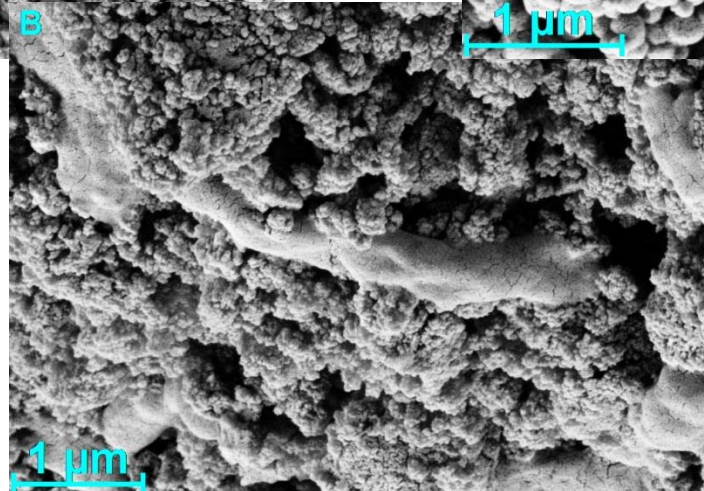
- Vzhled a přibližná velikost NPs
- Chování bakterií v přítomnosti nanočástic



*E. coli* s nanodiamanty



*E. coli* s nano-TiO<sub>2</sub>



*E. coli* s nano-SiO<sub>2</sub>

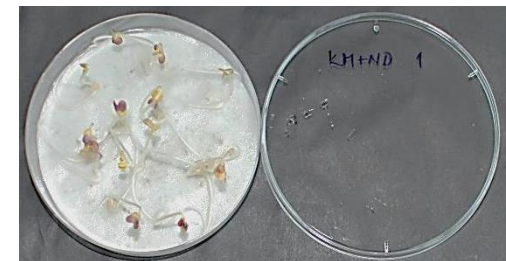
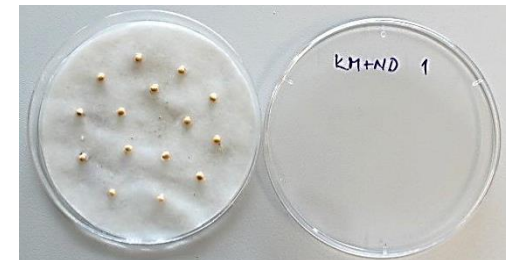


# Testování vlivu nanočástic na klíčivost semen *Sinapis alba*

- Kultivační médium (kontrola)
- Nanočástice: diamantů,  $\text{TiO}_2$  a  $\text{SiO}_2$
- 15 semen na misce, inkubováno 72 h ve tmě
- Změřeny délky kořínků

vzorek	průměrná délka kořene (mm)	délka kořene (%)
KM (kontrola)	26,5	100
KM + ND	44,4	168
KM + $\text{TiO}_2$	42,9	162
KM + $\text{SiO}_2$	34,5	132

- 98 – 100 % klíčivost



# Pokračování experimentu

- Dostupné vlastnosti NPs:
  - velikost, tvar, morfologie, reaktivita, náboj, Z- potenciál
- NPs: Bi, Ce, Pb a Pr pro kompletaci testů s *E. coli* a *P. aeruginosa* a další organismy, především aktivovaný kal na ČOV
- Další zajímavé nanočástice – začátek experimentu s nanočásticemi Ag
- Nanočástice jednoho druhu v různých velikostech

# Závěr

- Nanočástice Bi, Ce, Pb a Pr mají určitý toxický vliv na bakteriální populaci *E. coli*
- Nejvíce toxické NPs praseodymu – respirometrie a fluorescenční mikroskopie
- Nejméně toxické z těchto 4 druhů - NPs bismutu
- NPs diamantů,  $\text{SiO}_2$  a  $\text{TiO}_2$  nevykazovaly významnou toxicitu
- Přítomnost nanočástic v médiu vedla k pozitivní stimulaci růstu kořene *Sinapis alba*



TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI  
Ústav pro nanomateriály, pokročilé  
technologie a inovace ■

petra.skodova@tul.cz

# Děkuji za pozornost.

## Poděkování projektům:

Práce byla podpořena z projektu OPVaVpl „Inovativní výrobky a environmentální technologie“, registrační číslo CZ.1.05/3.1.00/14.0306. Výsledky tohoto projektu LO1201 byly získány za finanční podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy v rámci účelové podpory „Národní program pro udržitelný rozvoj I“ a projektu OP Výzkum a vývoj pro inovace „Centrum pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace“, registrační číslo CZ.1.05/2.1.00/01.0005.