

**Nano cink-oxid toxicitása stimulált UV sugárzás
alatt és az N-acetilcisztein toxicitás csökkentő
hatása a *Panagrellus redivivus* fonálféreg fajra**

KISS LOLA VIRÁG, SERES ANIKÓ ÉS NAGY PÉTER ISTVÁN

Szent István Egyetem, Állattani és Állatökológiai
Tanszék

Nanoanyagok jellemzői



- Kis méret (1-100 nm, legalább egy dimenzióban) → nagyobb fajlagos felület, könnyebb felszívódás, biológiai elérhetőség
- Megváltozott fizikai-kémiai jellemzők → ún. „nanoreleváns” tulajdonságok
- Nagy reakcióképesség, megnövekedhet a toxicitás



Nano Cink-oxid (ZnO)

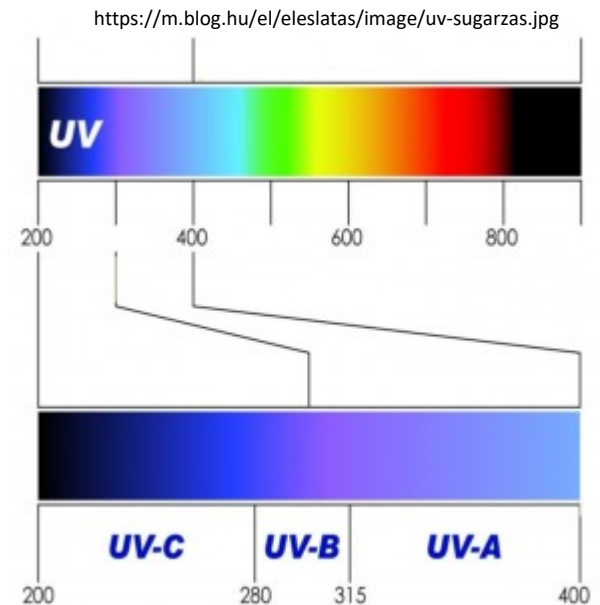
- Kiváló UV abszorpciós és reflexiós tulajdonságok
- Használhatják: környezeti kármentesítésre, termékek adalékanyagaiként, élelmiszerekben (Zn tápanyag forrás), kozmetikai szerekben és naptejekben
- Toxicitása három mechanizmuson alapul:
 - Cink-ionok kioldódása
 - Felületi kölcsönhatások során létrejött toxikus anyagok (pl.:szabad oxigén gyökök)
 - Közvetlen kapcsolat a részecskék között (pl.: DNS szálba beépülés)

<http://www.csinifix.hu/igy-valaszd-ki-a-naptejet-a-bortipusod-szerint-4998.html>



Az UV fény hatása

- A ZnO félvezető (a tiltott sáv 3.37 eV szélességű)
- 368 nm-nél kisebb hullámhosszú sugárzás képes fotoaktiválni és ezáltal indukálni a reaktív oxigén gyökök képződését (ROS)
- A Földet elérő napsugárzás kb. 6 % 368 nm vagy annál kisebb hullámhosszú
- ROS képződés mellett az UV fény hatására megnőhet a kioldódott ionok mennyisége



Mitigációs eljárások

- Csökkenthetünk vagy megszüntethetünk egyes toxikus hatásokat

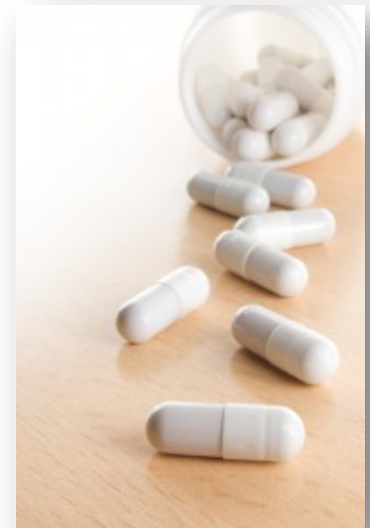
Cél: Azon káros tulajdonságok visszaszorítása, amik mind a nagyszemcsés, mind a nanoanyagnál fennállnak.

- Ami marad: a kizárólag **nanoreleváns** toxikus hatások (pl. méretből vagy a morfológiából adódó).
- Különböző eljárások:
 - Megvédjük a tesztszervezetet (pl. különböző antioxidánsok).
 - Csökkentjük az anyag toxicitását (pl. bevonatok a nanoanyag felszínén).

N-acetilcisztein (NAC)

Antioxidánsként használható, hogy csökkentsük a toxikus hatásokat:

- Képes akár direkt eltávolítani a képződött ROS-t.
- Elősegítheti antioxidáns enzimek képződését, azáltal, hogy prekuzorként funkcionál a glutation szintézisben.
- Kelátképző hatóanyagként is működhet, így csökkentve a kioldódott ionok által okozott toxikus hatásokat.



Miért a fonálférgesek?

- Szárazföldi, talajlakó állatokra kevés a teszt
- Serkentik a lebontó folyamatokat, részt vesznek a tápanyagkörforgás szabályozásában
- Szaporodási dinamikájuk széles skálát fed le
- Jó biológiai indikátorok
- A nano és a nagyszemcsés ZnO-dal közvetlenül is kapcsolatba kerülhetnek



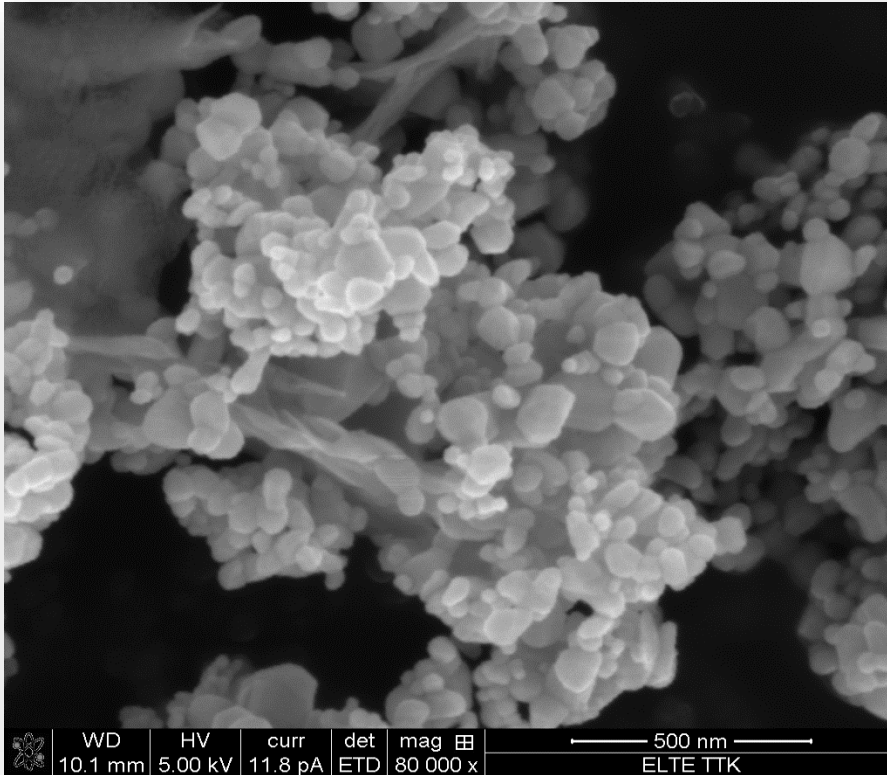
Panagrellus redivivus (Linné 1767)

- Szabadon élő, bakterivor táplálkozású fonálféregfaj
- Tápanyagokban gazdag élőhelyeken található (pl. talaj, rothadó gyümölcs, sör élesztő stb.)
- Hasonlóan jó tesztszervezet ökotoxikológiai vizsgálatokhoz, mint a *Caenorhabditis elegans*

<http://www.kakerlakenparade.de/mikrowuermchen.html>

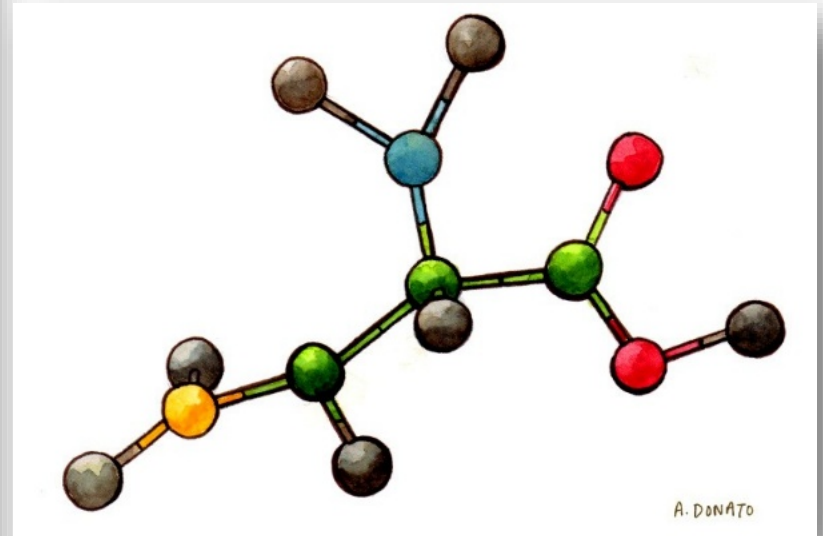


Felhasznált anyagok



15 nm ZnO a gyártó által megadott $\rightarrow 59 \pm 31$ nm ZnO az általunk mért méret
(US Research Nanomaterials, Inc.)

https://www.mskcc.org/sites/default/files/styles/large/public/node/3361/images/N-Acetylcysteine001_3x2.jpg



N-acetilcisztein

Toxicitási teszt

- Akut mortalitási teszt 96 lyukú mikroplate-en
- 5-5 kifejlett nőstény egyed
- 24 h teszt idő
- Hat koncentráció: 0,63; 1,26; 2,51; 5,02; 10,04 mg/l és kontroll
- Milli-Q vízben
- Sötétben (termosztátban), 12 óra fény és 12 óra sötét periódussal stimulált UV fény alatt (Növénynevelő kamrában)

Érvényességi feltétel:

- a kontroll csoportban a maximális elhullás nem lehet több 20 %-nál.

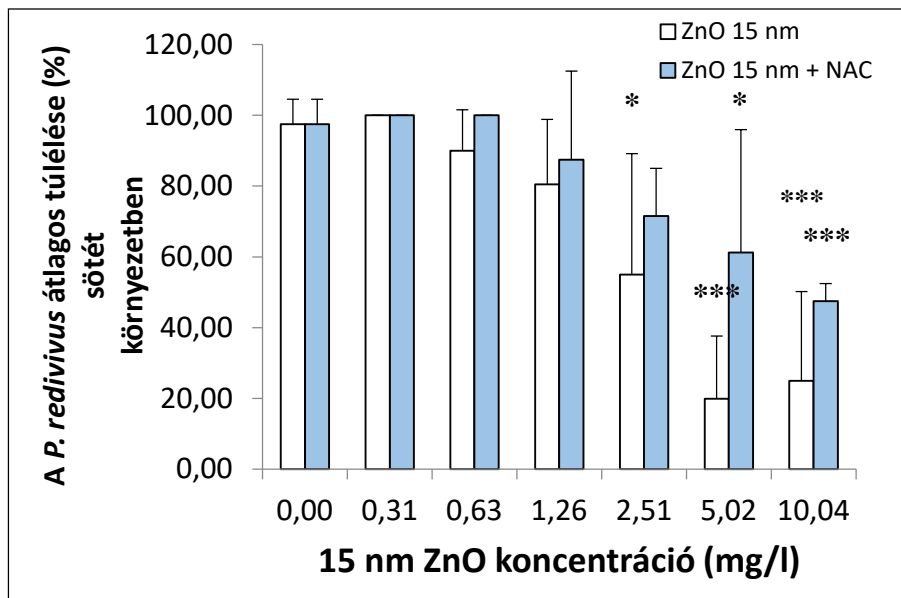


Mitigációs teszt

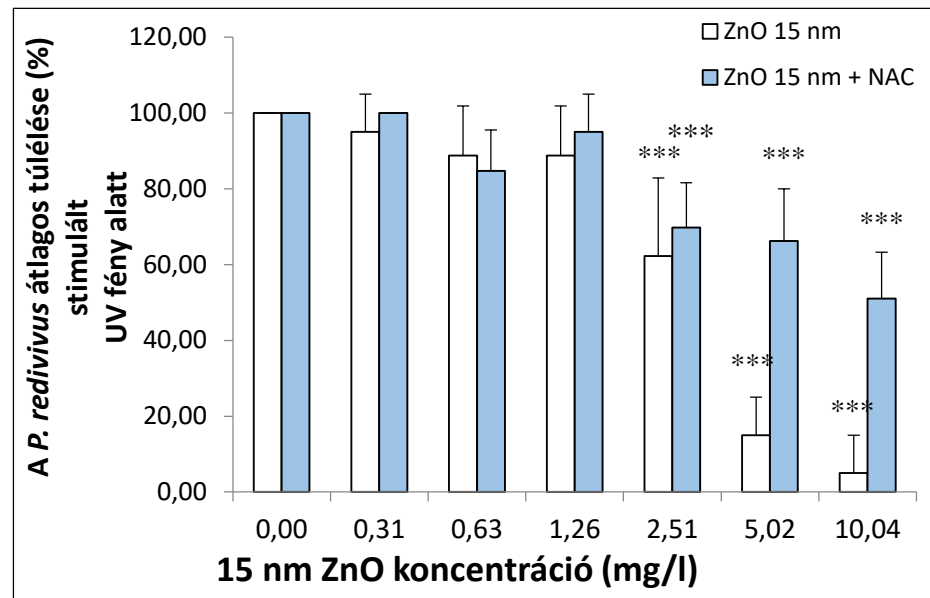
- Akut mortalitási teszt 96 lyukú mikroplate-en
- 5-5 kifejlett nőstény egyed
- 24 h teszt idő
- Hat koncentráció: 0,63; 1,26; 2,51; 5,02; 10,04 mg/l és kontroll
- Milli-Q vízben
- Sötétben (termosztátban), 12 óra fény és 12 óra sötét periódussal stimulált UV fény alatt (Növénynevelő kamrában)
- N-acetilcisztein hozzáadása a tesztkörnyezethez (5 mg/l koncentrációban)

Tiszta nZnO és hozzáadott NAC-t tartalmazó ZnO hatása a *P. redivivus*-ra

Sötét környezetben



Stimulált UV fény alatt



| LC ₅₀ | | | |
|------------------|-------------------|------------------|--------------------|
| Sötétben | | UV-fényben | |
| 15 nm ZnO | 15 nm ZnO + NAC | 15 nm ZnO | 15 nm ZnO + NAC |
| 2,98 | 8,73 | 2,88 | 10,44 |
| CI 99%:1,38-6,60 | CI 99%:5,18-17,33 | CI 99%:1,86-4,46 | CI 99%: 5,18-17,33 |

Mitigáció:
 $F = 27.56$ $p < 0.001$
 UV fény:
 $F = 0.0278$ $p = 0.87$

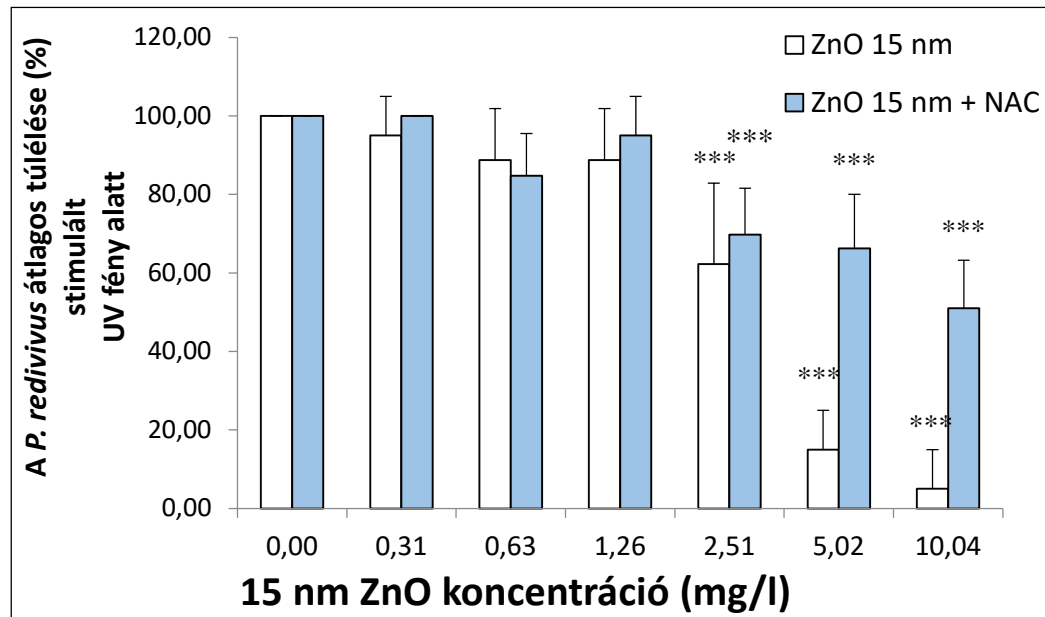
Szignifikancia szintek: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Következtetések

- Nem volt toxicitásbeli különbség a sötét és az UV fény közeg között.
- A NAC hozzáadása viszont mindkét esetben szignifikánsan csökkentette a mortalitást.
- Az antioxidáns mitigációs hatása ellenére maradt toxikus hatása a nZnO-nak a magasabb koncentrációkban mindkét fényviszony esetében.

Következtetések

- Továbbá interakciót véltünk felfedezni a koncentráció sor és a NAC használat között az UV fényben végzett vizsgálatnál ($F=10,39$; $p<0,001$)
- A magasabb koncentrációkban nagyobb volt a mortalitás csökkentő hatása az antioxidánsnak, mint az alacsonyabb koncentrációknál.



Javaslatok, további vizsgálatok

- A vizsgálat ismételt elvégzése párhuzamosan a nagyszemcsés ZnO hasonlító tesztelésével
- A kioldódott ROS és fotoindukált ionoldódás mennyiségének vizsgálata különböző karakterizációs eljárásokkal
- A meglévő nanoanyagok szilika bevonat képzése és a toxicitásbeli változások megfigyelése

Köszönöm a figyelmet!

Köszönöm a támogatást a Szent István Egyetem
Mikrobiológiai és Környezettoxikológiai Csoportjának!



EMBERI ERŐFORRÁSOK
MINISZTERIUMA

AZ EMBERI ERŐFORRÁSOK MINISZTERIUMA **ÚNKP-18-3-III-SZIE-7**
KÓDSZÁMÚ ÚJ NEMZETI KIVÁLÓSÁG PROGRAMJÁNAK TÁMOGATÁSÁVAL
KÉSZÜLT