



Středoškolská technika 2018

Setkání a prezentace prací středoškolských studentů na ČVUT

Posílení toxicity nanočástic stříbra vlivem komplexotvorných látek a následný vliv na strukturu fotosyntetizujících organismů

Nacházelová Klára

Táborské soukromé gymnázium s.r.o.

Zavadilská 2472

390 02, Tábor

ANOTACE:

NACHÁZELOVÁ K. *Posílení vlivu komplexotvorných látek na částice nanostříbra a následný vliv na strukturu fotosyntetizujících organismů*, Tábor, 2018. Práce pro SOČ. Táborské soukromé gymnázium a Základní škola. Konzultant Ing. Jan Komzák.

Klíčová slova: biodeteriogeny, sinice, řasy, nanostříbro, biocidy, kolonizace povrchů, komplexon

Pro likvidaci mikroorganismů dosedlých na povrch staveb se všeobecně používají toxické biocidy, jejichž použití je mnohdy v rozporu s ekotoxikologickými hledisky. Cílem mé práce je nalézt vhodnější prostředek na potlačení těchto fototropních organismů. Zaměřila jsem se na využití nanostříbra a tyto postupy jsem kombinovala s posílením toxicity stříbrných částic prostřednictvím komplexotvorných látek. Makroskopickým způsobem jsem ověřila účinnost tohoto postupu. Výsledkem je, že nanočástice stříbra v kombinaci s cheláty lze využít namísto agresivních chemikálií, které mohou způsobovat zdravotní potíže a ohrožovat životní prostředí.

ANOTATION:

Strengthening the toxicity of nanoparticles of silver complexing substances and the subsequent effect on the photosynthetic organisms.

Keywords: biodeteriogens, cyanobacteria, algae, nanosilver, biocides, surface colonization, complexon

For the disposal of micro-organisms contaminated on the surface of buildings, are generally used toxic biocides, the use of which is often inconsistent with ecotoxicological considerations. The aim of my work is to find a more appropriate means of suppressing these phototropic organisms. I focused on the use of nanoscale and combined these techniques with the enhancement of silver particles toxicity through complexing agents. In a macroscopic way, I have verified the effectiveness of this procedure. As a result, silver nanoparticles combined with chelates can be used instead of aggressive chemicals that can cause health problems and threaten the environment.

Obsah

1. Úvod práce	4
2. Cíl práce	5
3. Kolonizace mikroorganismů na povrchu staveb	6
3.1. Přichycené organismy vytvářející charakteristické zbarvení.....	6
3.1.1. Organismus a lithotyp (podkladový materiál).....	6
3.1.2. Popis děje	14
4. Současné použití biocidů.....	15
5. Nanostříbro	16
6. Komplexony – Cheláty.....	17
6.1. Společný efekt inhibice nanostříbra a chelátů	20
7. Laboratorní pokusy.....	21
7.1. Simulace poklesu pH v buňce a narušení vegetačních podmínek v buňce.....	21
7.2. Zkouška makroskopickým vyhodnocením kolonizovaného podkladu (lithotypu)	23
7.3. Kontrola kvality Ag.....	24
7.4. Provzdušnění koloidu pomocí peristaltického čerpadla	25
7.5. Reakce kovového stříbra (koloid) s provzdušněnou vodou za přítomnosti komplexonů III. 26	
8. Závěr.....	28
9. Zdroje	29

1. Úvod práce

Tuto práci považuji za navazující, jelikož jsem se v minulé práci zabývala otázkou oligodynamie a její využití v medicíně. Zde jsem zjistila, že obecnější využití nanostříbra v medicínské oblasti má své limity, které jsou definovány evropskými předpisy. Nanostříbro nelze použít *in vivo* a proto jsem nasměrovala svojí práci na oblast, kde lze nanostříbro využít namísto agresivních chemikálií, jejichž aplikace je s ekologickými zásadami.

Urbanizace měst přináší paradoxy, kdy ve spodním parteru jsou kultivovány trávničky, parky a kvetoucí záhony. Tyto kultury jsou masivně přihnojovány. Cílem je masivní růst a květenství, které je docilováno prostřednictvím rozpustných fosfátů. Čili ve spodním parteru je zezeň žádoucí, zatímco na fasádních plochách a městském mobiliáři se snažíme o její odstranění.

Poškozování povrchů staveb současných i historických vlivem biologické degradace má svůj původ v antropogenní činnosti. Ve své práci bych se chtěla soustředit na změny v materiálech, které jsou zapříčiněné životním cyklem mikroorganismů způsobujících biodegradaci, kterou také nazýváme biodeteriozace. Tento jev je způsoben sinicemi, řasami, lišejníky, mechorosty a bakteriemi – nazýváme je deterioyeny. Dochází k poškození ploch budov, a to i ve vyšších polohách (patrech), kam jsou deterioyeny vynášeny prouděním vzduchu a komínovým efektem u vysokých staveb.

Změněné organismy kolonizují povrchy staveb a tento efekt je odlišný u typu materiálů – vápenec, pískovec, kámen a travertin. Velikost kolonizace organismy ploch je odvislá také od teploty, vlhkosti a proudění vzduchu. Čištění ploch budov je proveditelné mechanickým způsobem – vodním paprskem a následnými chemickými postupy. Jsou používány toxické látky – biocidy.

V práci řeším otázku, jestli není z ekotoxikologického hlediska rozumnější využívat ekologicky přijatelnější technologie, nanotechnologii stříbra – v koloidní formě, tedy částic rozptýlených ve vodním roztoku. Zabývám se mechanismem posílení toxicity nanočástic stříbra vlivem komplexotvorných látek – ligandů. Tedy posílení inhibičního účinku.

Musím poznamenat, že kolonizace je v přírodě zcela obvyklý princip, kdy dochází ke spontánnímu druhovému rozšiřování, které nemusí být antropogenním produktem.

2. Cíl práce

Mým cílem práce bylo vysvětlit, co způsobuje kolonizaci mikroorganismů na povrchu staveb (lithotypů) a co vlastně organismy způsobují. Proč je chceme odstranit nebo inhibovat a věnovat se tématu současného použití biocidů pro potlačení biodeteriogenů (sinic, řas, lišejníků, mechorostů a bakterií). Mým hlavním zájmem bylo prověření možnosti aplikace nanostříbra na povrch materiálů staveb z důvodů ochrany objektů před jejich biodegradací a využít tohoto ekologičtějšího využití v praxi. A následně vysvětlit ovlivnění a posílení účinků nanostříbra prostřednictvím komplexotvorných látek – inhibice.

3. Kolonizace mikroorganismů na povrchu staveb

Jedná se o souhrn složitých vlivů fyzikálních, chemických a biologických. Materiál staveb nebývá vůči těmto vlivům odolný. Jako první v potravním řetězci kolonizují podklady fototrofní a chemotrofní bakterie, sinice a řasy, vzniká biofilm a podklad pro další organismy. Biofilm se vytváří ve speciálně nutričně chudém prostředí tak, že nejprve dochází k transportu organických molekul a buněk k povrchu, dále pak absorpci organických molekul za vzniku povrchu, na který se absorbují buňky. Pokud je povrchová vrstva biofilmu tvořena fotosynteticky aktivními organismy, je zajištěn přísun živin pro další, v biofilmu přítomné organismy. Bakterie podporují nový nárůst sinic a řas. Na organickém materiálu biofilmu tvořených sinicemi se vyživují heterotrofní organismy. Fotosynteticky aktivní mikroorganismy jsou potencionálně nejvíce agresivní k povrchům. Srážení uhličitánů je typické pro sinice a zelené řasy. U řas je známá produkce organických kyselin. Slizové obaly u sinic fungují jako rezervoáry vody a umožňují kolonizaci podkladu i v suchém prostředí. Tím je zajištěna biologická aktivita biofilmu, zvýšená kapacita retence vody v biomase a umožní růst biofilmu, tvorbu organické hmoty a procesy humifikace usnadňují přisednutí mechu a jiných rostlin.

3.1. Přichycené organismy vytvářející charakteristické zbarvení

3.1.1. Organismus a lithotyp (podkladový materiál)

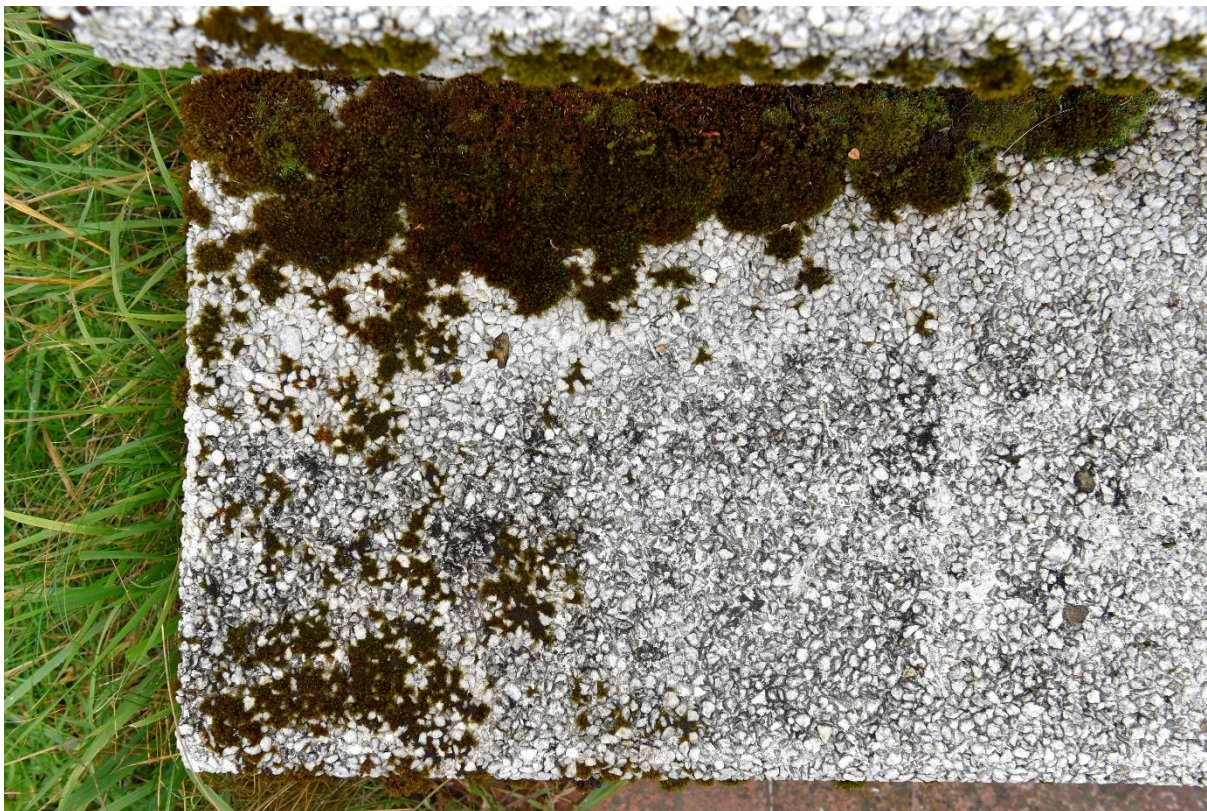
ŘASY	
Kamenné podklady (žula) Cihly Malta	Stichococcum
	Chlorella
	Chlorococcum

Tabulka 1: Řasy

SINICE	
Vápenaté podklady	Jednobuněčné - Černé povlaky
Na černých sulfátech (sulficidy z ovzduší)	Eloethece
Křemičité podklady	Vláknité, Micrococcus

Tabulka 2: Sinice

ROZSIVKY	
Nitzchia, Navicula	



Obrázek 1 a 2: Kolonizace na vápenocementovém podkladu



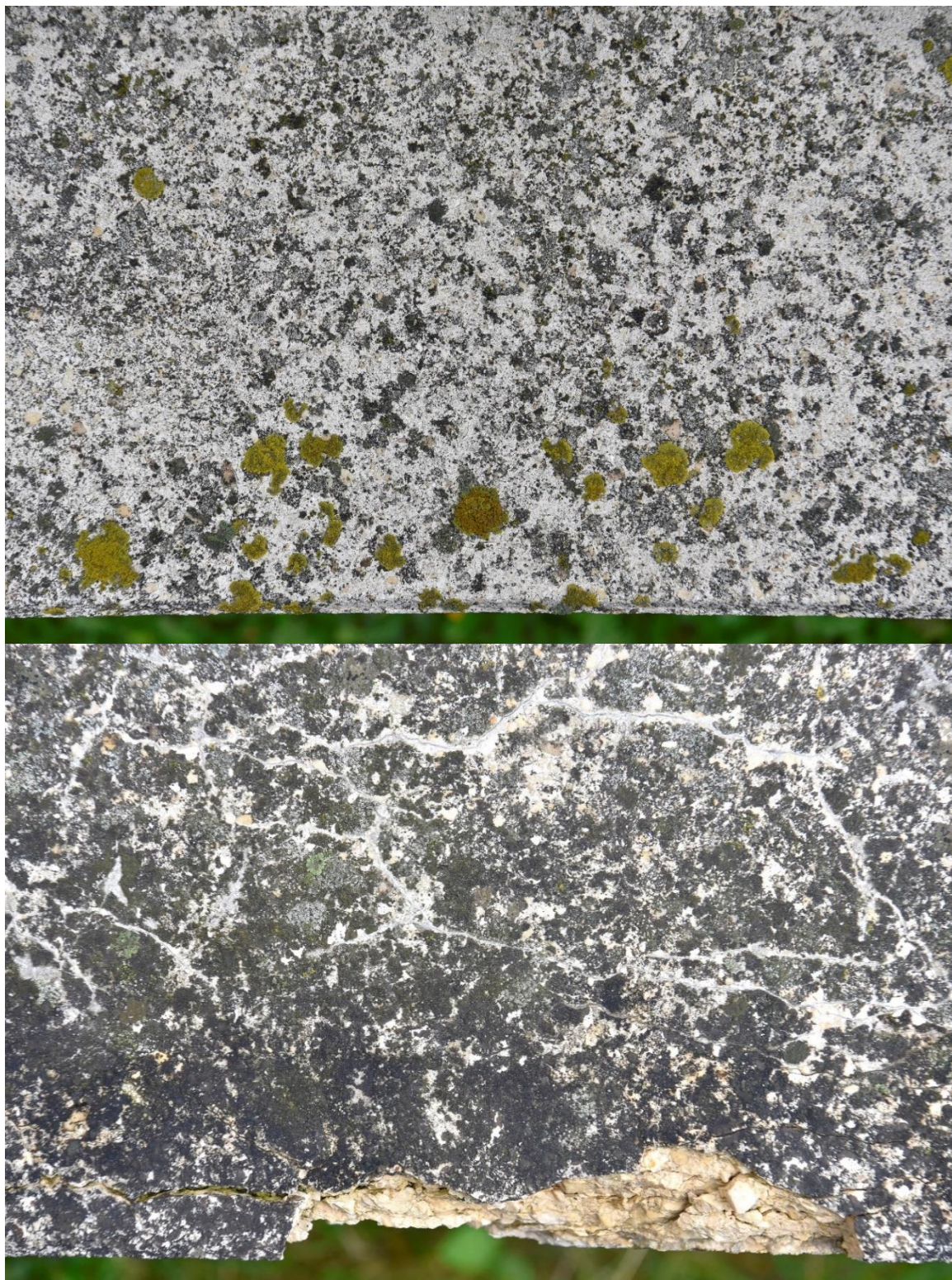
Obrázek 3: Cementový podklad



Obrázek 4: Zelená řasa na cementovém podkladu



Obrázek 5: Lišejník na střešní krytině



Obrázek 6 a 7: Ukázka destrukce vápenocementové desky vlivem kolonizace



Obrázek 8: Řasy na dřevěné konstrukci



Obrázek 9 a 10: Kolonizace kamenných podkladů lišejníky, mechorosty a řasami

3.1.2. Popis děje

Nejedná se jen o estetizaci povrchu, ale kolonie také způsobují narušení integrity podkladu a destrukci jejich biologickou aktivitou. Destrukce biologickou aktivitou je dobře patrná na obrázku 6 a 7. Známa je produkce organických kyselin u řas. Tento problém je bohatě rozvinut u objektů, které se nacházejí v místech, kde je zvýšená vlhkost a teplota – Středozeří, tropy a tam, kde je už původní vegetace.

3.1.3.

4. Současné použití biocidů

Dnes existuje celé spektrum látek, které likvidují tyto biodeteriogeny. Biocid (řec. *bio* = život + *cidó* = ničím) je obecně látka používaná k hubení, tlumení nebo omezování růstu škodlivých organismů ve všech oblastech lidské činnosti. Jsou ve volném prodeji a v jejich návodech je upozornění přesného znění: Zabraňte uvolnění do životního prostředí. Samy návody již upozorňují na nutnost přesné aplikace, protože mohou kontaminovat vodní prostředí a okolní faunu. Mnohdy obsahují i doporučení, že součástí aplikace by mělo být použití koncentrovaného louhu. Tyto látky mají širokospektrální účinky. Chemické postupy ošetřování povrchů využívají víceméně potenciálně nebezpečné a někdy toxické biocidy.

Provedla jsem srovnání především z aplikačního hlediska. Součástí použití těchto biocidů je také velká spotřeba oplachové vody. Takže prakticky vždy se tyto látky se svými negativními vlastnostmi dostávají do životního prostředí. Je třeba poznamenat, že používání vodního paprsku způsobuje poškozování vnějších vrstev povrchu staveb.

Z ekotoxikologického hlediska je perspektivní využívání ve své podstatě ekologicky šetrných postupů na bázi nanotechnologie. A to je směr, kterým se zabývá moje práce, kdy se snažím najít řešení s látkami, které by byly šetrnější k životnímu prostředí. Domnívám se, že touto látkou by mohla být nanotechnologie stříbra s využitím komplexotvorných látek, a to je předmětem mého návrhu. Tato metoda je z látkového hlediska výhodná v tom, že se používají velmi nízké koncentrace.

Příklady:

Biocid + a Detastop



Obrázek 11: Ukázka biocidu – Detastop

5. Nanostříbro

Stříbro je ve své podstatě inertní prvek, ale i přesto reaguje například s vodou, kdy dochází k tvorbě iontů a toto ionizované stříbro je reaktivní a váže se na tkáňové proteiny a způsobuje strukturální změny v bakteriálních buněčných stěnách. Následkem toho je deformace buňky a následná smrt. Jedná se o takzvaný oligodynamický efekt, kterým jsem se zabývala v minulém roce, jak bylo řečeno. Volné ionty Ag jsou silně fungicidní, algicidní a baktericidní. Tyto toxické vlivy se týkají nejen stříbrných iontů, ale i sloučenin obsahující stříbro. V přítomnosti kyslíku je stříbro rovněž baktericidní, protože oxid stříbrný Ag_2O je dostatečně rozpustný a uvolňuje zmíněné ionty, které inhibují (zpomalují) enzymy uplatňující se v cyklech fosforu.

Antimikrobiální účinek stříbra je toxický efekt, který může být způsoben buď vlastní nanočásticí anebo také vznikajícími stříbrnými ionty. Toto toxické působení má zásadní vliv na fotosystém buněk, který je vystaven tomuto oxidativnímu stresu. Je třeba také zdůraznit, že koloidní i iontové stříbro nemá vliv na fotosyntetizující barviva, což je velmi důležité v případě, že provádíme laboratorní rozboru sinic prostřednictvím stanovení koncentrace chlorofylu a.

Nanočástice stříbra lze využít namísto agresivních chemikálií, které samy o sobě mohou vyvolávat zdravotní potíže. Ovšem při jejich použití je nutné zvažovat nejen eliminaci (likvidaci) cílového organismu, ale i případný negativní dopad na ekosystém v širším slova smyslu.

Nanočástice kovů, v porovnání s běžnými částicemi kovů, mají větší inhibiční účinek a potenciál v odstranění chemického a mikrobiálního znečištění. Vhodnou látkou pro využití se jeví koloidní stříbro, které jsem použila v koncentraci 10ppm. Koncentrace jsou z řádového využití mnohem nižší než u zmíněných biocidů, proto je nanostříbro z ekotoxiologického hlediska působení na životní prostředí mnohem šetrnější.

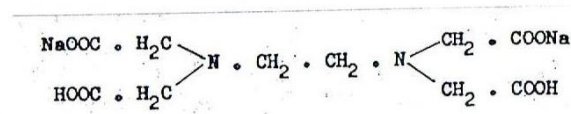
6. Komplexony – Cheláty

Komplexony jsou látky, které tvoří s mnoha kovovými kationty nedisociované komplexy. Při těchto reakcích je na centrální iont kovu koordinačně napojen tzv. ligand svými volnými elektronovými páry, tzv. donory. Některé ligandy, zejména složité organické molekuly jsou schopny obsadit více koordinačních míst centrálního atomu, neboť mají několik skupin s volnými elektronovými páry. Takové látky označujeme jako polydonorové ligandy (Y) a s kovovým iontem tvoří cyklické komplexy neboli cheláty. Název je odvozen od řeckého slova chelé – klepeto.

Největší stabilitu mají cheláty tvořené polydonorovými molekulami aminopolykarbonových kyselin, jako nitrilotrioctové a ethylendiamintetraoctové. Jsou to tetra donorová činidla, která reagují s kovovými ionty za vzniku stálých cyklických komplexů, složení 1:1 tj. jeden atom kovu (jednomocný až čtyřmocný iont) a jedna molekula činidla – ligandu. Tyto komplexotvorné aminokarbonové kyseliny jsou deltaaminokyseliny, ve kterých je karboxymetalová skupina vázána na atom dusíku.

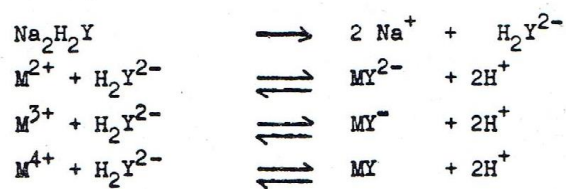
Nejrozšířenějším komplexonem (chelatonem) je kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA) a její sodné soli; obsahují v molekule 4 aciskupiny – COOH a dva terciární dusíky. Aciskupiny a dusíky se uplatňují jako cykloskupiny.

Vzorce výše jmenovaných komplexonů:



Obrázek 12: Rovnice I

Dvojsodná sůl je lépe rozpustná ve vodě než samotná kyselina. Při reakci s kovovými ionty (M) vznikají ve vodě rozpustné komplexní ionty typu MY:

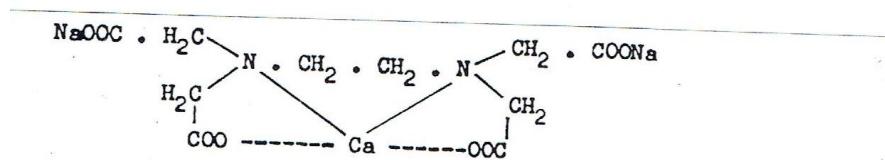


Obrázek 13: Rovnice II

Jednomocné ionty M^+ vytvářejí jen málo stálé komplexy M^{3-} .

Fyzikálně chemické vlastnosti komplexonů studoval od roku 1945 Schwarzenbach k použití k titračním metodám na stavení kovových iontů. Dnes jsou tato činidla běžná v analytické chemii.

Komplexony tvoří ve vodě rozpustné komplexní sloučeniny a kovovými ionty jako Ca^{++} , Mg^{++} , Fe^{++} , Cu^{++} apod. S ionty Ca^{++} se EDTA pojí dle vzorce:



Obrázek 14: Rovnice III

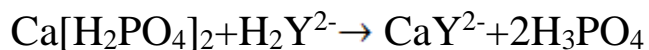
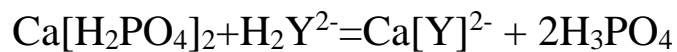
Komplexně vázané kovy se tak blokují a nejsou schopny se uvolnit, nelze je dokázat obvyklými iontovými reakcemi a neskýtají žádnou sraženinu obvyklými srážecími přípravky.

Chemizmus polapení iontů Ca^{++} chelátem je pro můj případ důležitý. V buněčné biologii organismů je využití chelatační schopnosti spojeno s rozrušováním buněčných spojů, které vyžadují přítomnost vápníku. Jedná se také o slizové obaly inokul sinic. Toxickým působením nanostříbra dochází k nepravidelným pórům ve vnější membráně a ke změně její propustnosti a umožní také průnik chelátů.

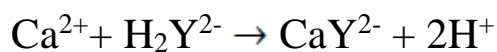
Chelát je z ekotoxikologického hlediska pro životní prostředí mnohem bezpečnější než biocidy.

7. Laboratorní pokusy

7.1. Simulace poklesu pH v buňce a narušení vegetačních podmínek v buňce



Při reakci dihydrogenfosforečnanu vápenatého (superfosfátu) a komplexonů dojde nejen k vytvoření chelátu (uchopení Ca), ale i k tvorbě kyseliny fosforečné (H^+) – tedy k poklesu pH → narušení vegetačních podmínek buňky

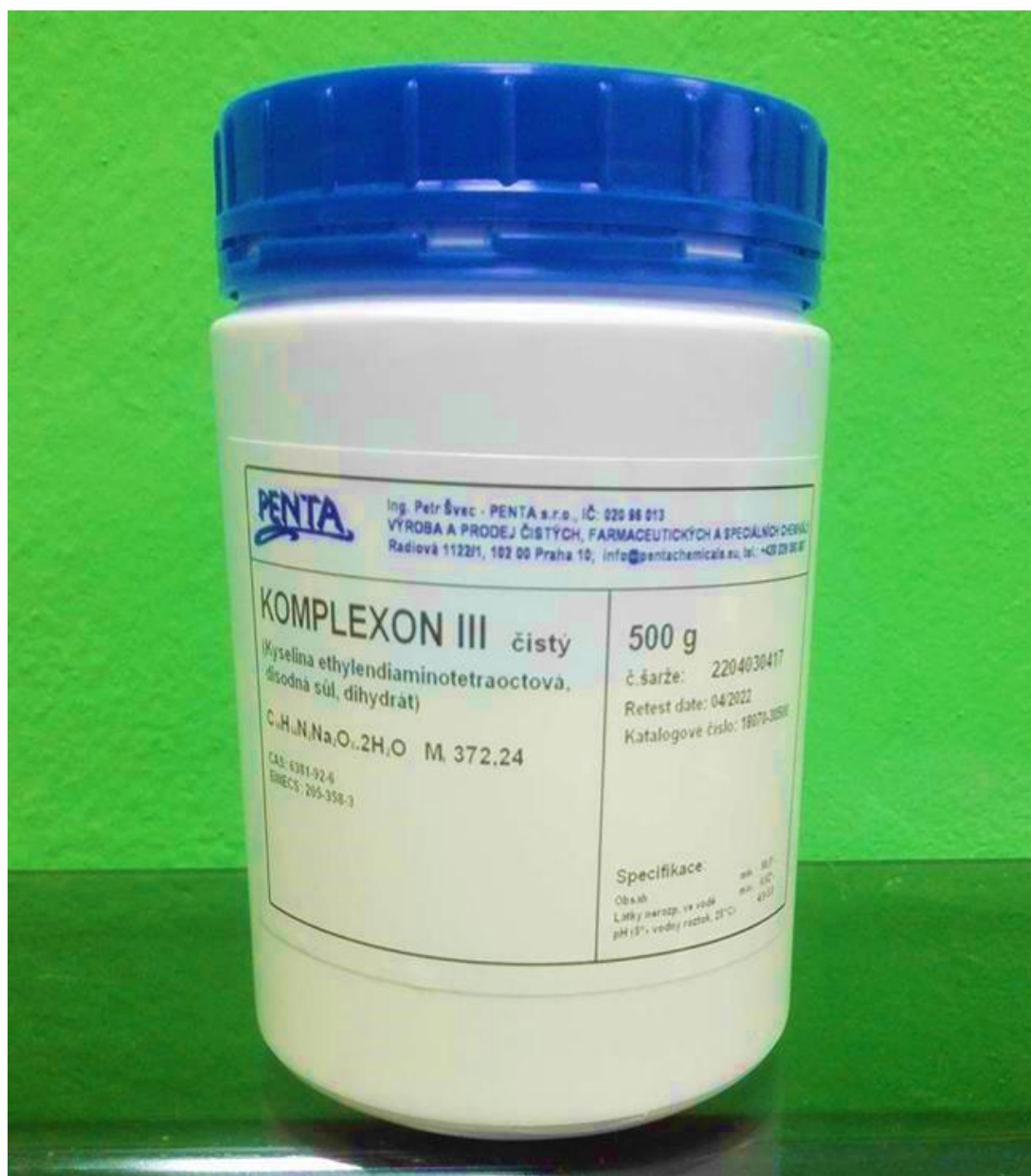


Obrázek 16: Pokus I:

0,5 g superfosfátu + 0,1 mol/l komplexonu III (30ml)

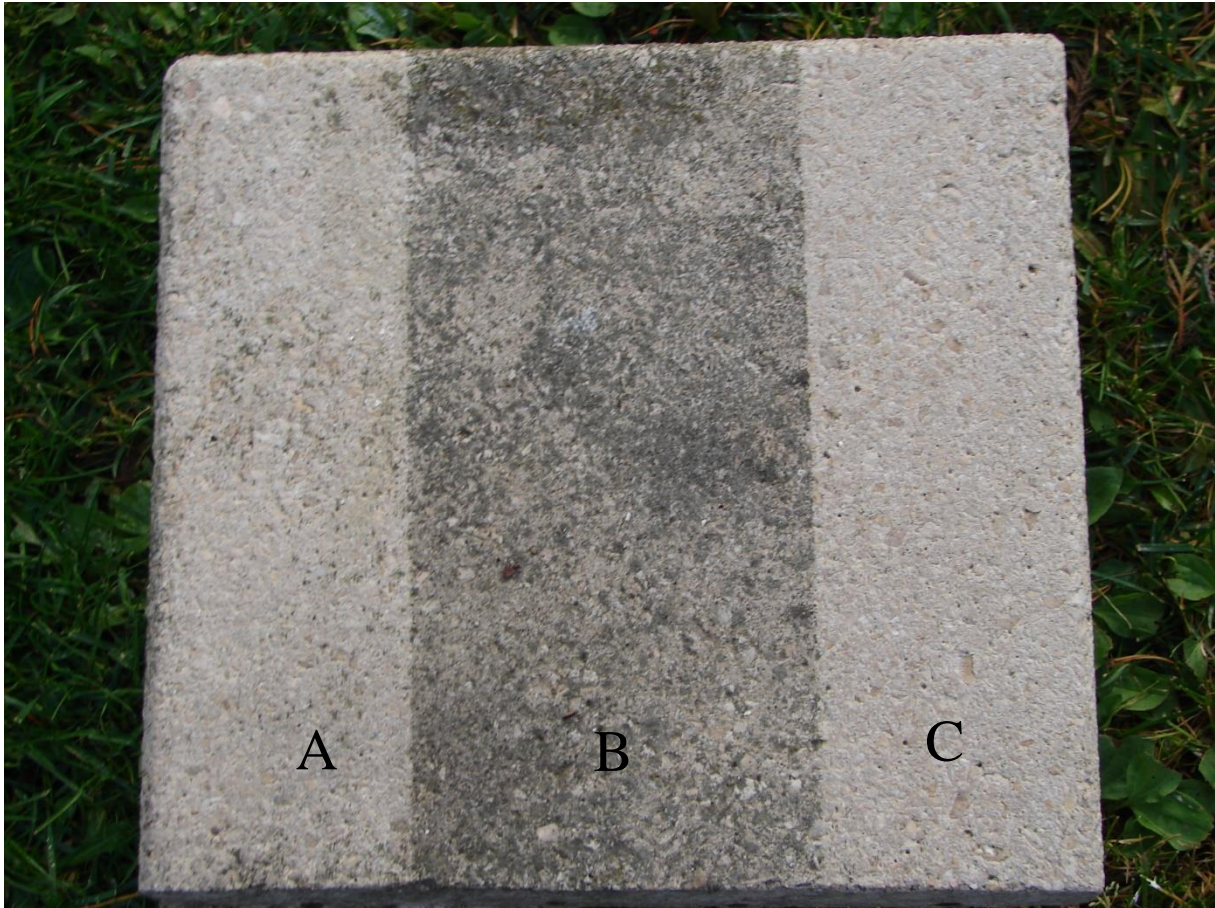
Vlevo: samotný superfosfát Ca

Vpravo: superfosfát + komplexon III a viditelný pokles pH



Obrázek 17: Komplexon III použitý v pokusu

7.2. Zkouška makroskopickým vyhodnocením kolonizovaného podkladu (lithotypu)



Obrázek 18: Pokus II:

Podklad (lithotyp): vápenocementová deska 30 cm x 30 cm, tloušťka – 6 cm

A) Aplikováno koloidní stříbro - hustota 10ppm (koncentrace -5,9 miligramů na litr)

B) Původní stav

C) Aplikace koloidního stříbra a 0,1 molárního roztoku komplexonu III

Množství použito na daný lithotyp: 15ml koloidního stříbra na m²

20ml roztoku chelatonu (0,1 mol/l)

Expozice: 24 hodin

Průměrná teplota: 15 stupňů Celsia

Vyhodnocení: Prováděla jsem pokus makroskopicky a z pokusu je patrný pozitivní účinek kombinace koloidního stříbra a komplexonů III v části C.

7.3. Kontrola kvality Ag



Obrázek 19: Pokus III

Kalibrační roztoky a přístroj Combo pH + EC (školní laboratoř)

V tomto pokusu jsem zkoušela, obsahuje-li preparát koloidního stříbra Ag.100 koloidní částice stříbra a demineralizovanou vodu

Výsledek: Vodivost nula – kvalita preparátu potvrzena (neobsahuje Ag^+)

7.4. Provzdušnění koloidu pomocí peristaltického čerpadla

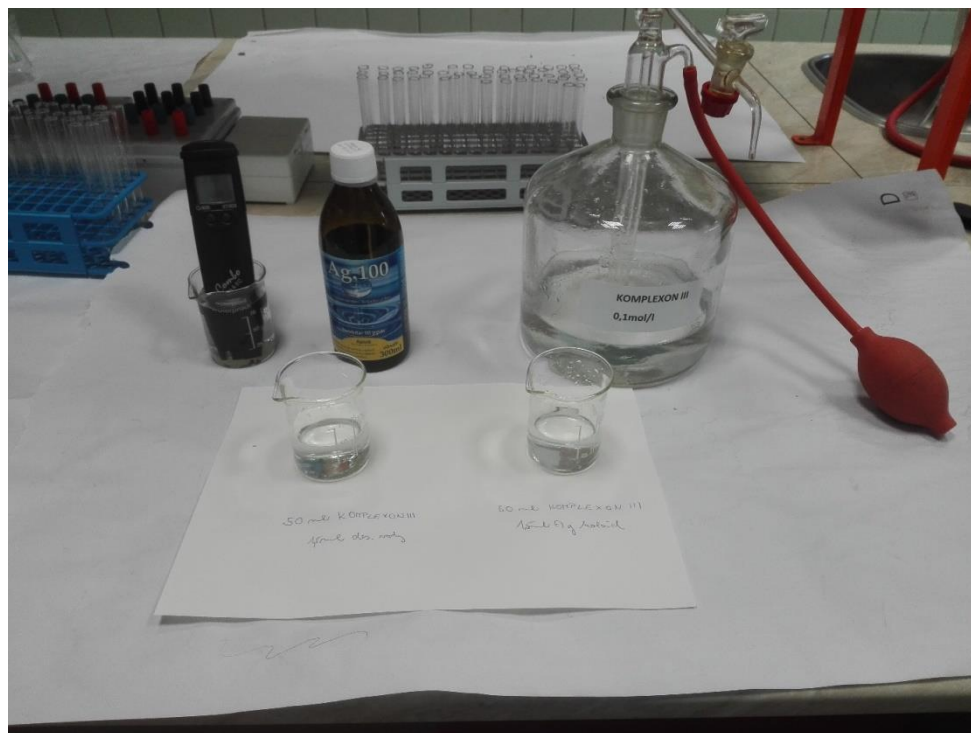


Obrázek 20: Pokus III:

50 ml koloidního Ag (100.Ag)

Provzdušněný koloid jsem použila k následujícímu pokusu: Reakce kovového stříbra

7.5. Reakce kovového stříbra (koloid) s provzdušněnou vodou za přítomnosti komplexonů III



Obrázek 21: Pokus IV:

Rovněž při styku s vodou obsahující rozpuštěný vzduch přechází stříbro do roztoku, i když ve velmi malých množstvím podle rovnice: $2 \text{ Ag} + \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2} \text{ O}_2 = 2 \text{ Ag}^+ + 2\text{OH}^-$

Zvětšení hodnoty pH vlivem reakce bylo možno dokázat. Tuto reakci jsem také modifikovala přítomností komplexonu III

50ml komplexonu III + 1,5 ml destilované vody (vlevo)

Vodivost: 10,64

Teplota: 20,4 C

pH = 5,01

X

50 ml komplexonu III + 1,5 ml koloidního Ag (vpravo)

Vodivost: 10,66

Teplota: 20,4 C

$pH = 5,08$

Jedná se o modifikaci pokusu, který popisuje Dr. Heinrich Remy – Univerzita Hamburg

8. Závěr

Stříbro způsobuje degradaci membrán buněk. Kovové nanočástice stříbra inhibují svým toxickým působením buněčný růst a fotosyntetickou aktivitu. Toxický účinek závisí na koncentraci nanočástic a to vše souvisí s polopropustností buněčné membrány. Proto si patogenní organismy nemohou vyvinout resistenci.

Antibakteriální aktivita stříbra je podporována přítomností chelátů a jejich schopnosti, které způsobují rozrušování buněčných spojů, které bývají navázány na Ca.

Tento příspěvek považuji za nový, protože v odborné literatuře jsem pro jeho vysvětlení nenašla žádnou oporu.

Praktickou zkouškou a vyhodnocením kolonizovaného lithotypu jsem prokázala, že aplikace koloidního stříbra společně s komplexonem vykazuje větší účinnost v oblasti eliminace biodeteriogenů než použití samotného stříbra, čímž jsem prokázala cíl své práce.

Nanočástice stříbra lze využít namísto agresivních chemikálií, které jsou v rozporu s ekologickými zásadami. Kolonizaci povrchů staveb deterio-geny je možné zabránit anebo potlačit použitím nanostříbra nebo koloidního stříbra. Společně s cheláty je účinek zvyšován.

9. Zdroje

1. FIKR, J. a kol. *Názvoslovní organické chemie*. Národní centrum IUPAC pro Českou republiku. Nakladatelství Rubico. Olomouc 2008.
2. MAREČEK, A. *Chemie pro čtyřletá gymnázia*. 1. díl. Praha 1998.
3. NACHÁZELOVÁ K. *Antibaktericidní účinek stříbrných iontů*. Tábor, 2017. Práce pro SOČ. Tábořské soukromé gymnázium. Konzultant Ing. Jan Komzák.
4. REMY, M. *Anorganická chemie II. Díl*. Univerzita v Hamburku. Nakladatelství Technické literatury. Praha 1972.
5. ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ J. a kol. *Fototropní deterioogeny a jejich eliminace z povrchů*. Chem. Listy 108, St. 660-666. Praha 2014.
6. STRNAD, M. *Použití Syntronu B v kotelním hospodářství*. VCHZ Kolín 1971. Přednáškový blok o použití komplexonů.