

Jak nanotechnologia wpływa na dżdżownice?

J. Popis ^a, B. Ziębowicz ^b

^a Studentka Politechniki Śląskiej, Wydział Mechaniczny Technologiczny, Instytut Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych
email: julia.popis713@onet.pl

^b Politechnika Śląska, Wydział Mechaniczny Technologiczny, Instytut Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych
email: boguslaw.ziebowicz@polsl.pl

Streszczenie: W artykule zobrazowano wpływ nanocząstek i jonów wybranych pierwiastków oraz działalności człowieka na życie dżdżownic. Przybliżono charakterystykę budowy pierścienic, przeprowadzone na nich badania wraz z ich rezultatami. Dowodzą one, że toksyczność nanocząstek srebra w glebach wzrasta wraz z upływem czasu, gdy jony srebra i nanocząstki łączą się w aglomeraty. Stężenie tychże cząstek również ma wpływ na przeżywalność dżdżownic. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie niekorzystnego wpływu nanocząstek srebra na dżdżownice.

Abstract: The article illustrated the influence of nanoparticles and ions of selected elements and human activity on the life of earthworm. The body structure of the annelids and the tests carried out with their results have been approximated. They show that silver toxicity in soils is increasing with time, when silver ions and nanoparticles merge into agglomerates. The concentration of these particles also have influence on the earthworm's life expectancy. The aim of this article is to present negative influence of silver nanoparticles on earthworm.

Słowa kluczowe: nanotechnologia, dżdżownice, nanocząstki srebra

1. WSTĘP

Pojęcie „nanotechnologia” wzbudza u ludzi duże zaciekawienie. Niestety większość nie wie z jakimi zagadnieniami jest ono związane. Nie są świadomi, że nanotechnologia jest wśród nich i mają z nią do czynienia w codziennym życiu. Obecnie produkowane są ubrania, kosmetyki, opakowania na żywność leków przy użyciu nanocząstek różnych pierwiastków. Bardzo często stosowane są nanocząsteczki srebra z uwagi na ich bakteriobójcze działanie. Nanotechnologia jest dziedziną nauki, która rozwija się z każdym dniem. Możliwości jej rozwoju są nieograniczone. Wszystkie te działania wiążą się

z obecnością nanocząstek w ściekach, osadach ściekowych, rzekach, glebie, powietrzu. Oddziałują one na organizmy żyjące w tych środowiskach. Jednym z organizmów narażonych na działanie nanocząstek srebra są żyjące w glebie dżdżownice. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie wpływu różnych nanocząstek na organizm dżdżownic.

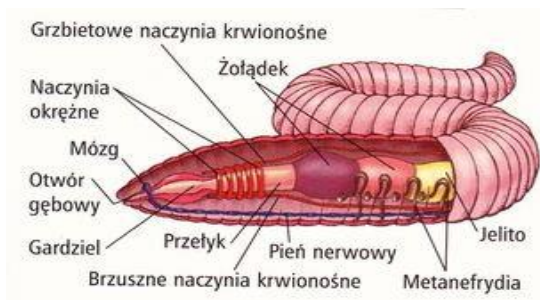
2. DŹDŻOWNICE BUDOWA

Zwierzęta te należą do typu pierścienic (*łac. Annelida*) nazwa pochodzi od licznych pierścieni – segmentów, z których składa się ich ciało, gromada: skąposzczety, rodzina: dżdżownicowate (Rys.1).



Rys. 1. Dżdżownica (*Lumbricus terrestris*)
Fig 1. The earthworm (*Lumbricus terrestris*)

a)



b)



Rys.2. Budowa dżdżownicy: a) przekrój wzdłużny, b) przekrój poprzeczny
Fig. 2. Figure of the earthworm.: a) longitudinal section, b) cross-section

Ściana ciała oraz większość narządów wewnętrznych pierścienic wykazuje budowę segmentowaną. Ich przewód pokarmowy biegnie przez całe ciało, rozpoczyna się otworem gębowym, a kończy otworem odbytowym (Rys. 2a). W przekroju dżdżownicy wyraźnie widać segmenty, z których wystają szczecinki ułożone parami (Rys. 2b). Dżdżownice drążą w glebie korytarze, przepuszczając w ciągu doby przez swój przewód pokarmowy ilość gleby

oraz szczątki organiczne równe masie swojego ciała. Dzięki nim gleba zostaje wymieszana, napowietrzona i wzbogacona w związki azotu wydalone przez zwierzęta [1]. Poprzez użyźnianie gleby do organizmu dżdżownic również dostają się nanocząstki srebra. Prowadzone badania dowodzą, że toksyczność nanocząstek srebra w glebach wzrasta wraz z upływem czasu, gdy jony srebra i nanocząstki łączą się w aglomeraty. Stężenie tychże cząstek również ma wpływ na przeżywalność dżdżownic, co przedstawiono poniżej.

3. BADANIA NAD TOKSYCZNYM DZIAŁANIEM SREBRA

W pracy ukazano wpływ nanocząstek srebra, tlenku cynku oraz kobaltu na rozwój i przeżywalność dżdżownic. Największą uwagę zwrócono na nanocząsteczki srebra, które niszczą bakterie w procesach:

- Utleniania katalitycznego – srebro działa jako katalizator utleniania oraz absorbuje na powierzchni swoich jonów tlen atomowy. Aktywny tlen reaguje z grupami tiolowymi (-SH) cysteiny wchodzącej w skład budowy ściany komórkowej bakterii. Skutkiem tego jest usunięcie atomu wodoru i powstanie wiązań między siarką -S-S-. Następuje zahamowanie oddychania poprzez zamknięcie kanałów przenoszenia elektronów i obumarcie komórki;
- Reakcji ze ścianą komórkową bakterii – srebro reaguje z peptydoglikanami blokując proces oddychania komórkowego, w wyniku czego powstają wolne protony, które są czynnikami redukującymi w procesie denaturacji;
- Denaturacji białka – zmiana struktury przestrzennej poprzez zerwanie wiązania -S-S- pod wpływem czynnika redukującego (H^+) [5].

3.1. EKSPERYMENT

Badania nad wpływem jonów srebra oraz nanocząstek srebra przeprowadzono na *Eisenia fetida* (kompostowiec różowy) należącym do gatunku skąposzczeta i rodziny dżdżownicowatych. Kompostowiec różowy znany jest pod nazwą dżdżownica kalifornijska lub dżdżownica kompostowa [2]. Dżdżownice te szybko rozkładają materię organiczną. Żyją około 15 lat, szybko rosną i bardzo szybko się rozmnażają [3].

W przedstawionym badaniu pokazano jaki wpływ ma zmiana stężenia jonów srebra, pochodzących z $AgNO_3$ oraz nanocząstek srebra na dostępność biologiczną (biodostępność) i toksyczność na dżdżownice żyjące w glebie. Do eksperymentu użyto nanocząstek srebra o wielkości 50 nm, sól $AgNO_3$ była w postaci białego, krystalicznego proszku.

Zwierzęta umieszczono w glebie gliniastej o pH około 5.5 wzbogaconej NAg (0, 45, 112, 281, 703, 1758, 4395 mg Ag/kg) oraz $AgNO_3$ (0, 18, 45, 112, 281, 703, 1758 mg Ag/kg). Na wstępie napowietrzano glebę i stosowano taką samą ilość wody w celu zapewnienia stałego poziomu wilgotności. Po 1, 9, 30 i 52 tygodniach oceniano toksyczność Ag. Dżdżownice do badań hodowano od 4 do 6 tygodni w pudełkach, w temperaturze 20 ° C na podłożu złożonym z równych objętości torfu, kory kompostowanej i gleby gliniastej. Zostały one wylęzione i hodowane w tej glebie. Pożywkę dla nich stanowił koński obornik. Przed badaniami dżdżownice zostały pobrane z hodowli, umyte, wysuszone i zważone przed wprowadzeniem do pojemników (średnia masa wynosiła $0,463 \pm 0,032$ g). Dżdżownice inkubowano w glebie przez 28 dni w temperaturze 20 ± 1 ° C przy stałym oświetleniu. Jako pokarmu użyto końskiego obornika wcześniej zamrożonego i osuszonego. Naturalny nawóz uzupełniono po 14 dniach. Po 4 tygodniach przeprowadzono selekcję i zważono dżdżownice, które przeżyły. Umieszczono na wilgotnym papierze filtracyjnym 24 godziny, aby pozwolić

im oczyścić zawartość jelita, a następnie zamrozić w temperaturze $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ dla przyszłej analizy. Po 4 tygodniach wróciły do gleby aby kokony mogły się dalej wylęgać. Następnie pojemniki umieszczono w kąpeli wodnej w temperaturze $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ aby ułatwić liczenie młodych osobników. Podczas kontroli przy użyciu TEM zaobserwowano łączenie się cząsteczek. Średnie stężenia NAg oraz AgNO_3 w glebie wynosiły $93\% \pm 18\%$.

Badania dowodzą, że jony srebra są bardziej toksyczne w stosunku do nanocząstek srebra. W obu przypadkach wraz z upływem czasu wzrasta toksyczność jonów oraz nanocząstek srebra, co skutkuje spowolnieniem rozmnażania młodocianych organizmów i ich wzrost śmiertelności. Toksyczność NAg i Ag^+ powodowana jest ich rozpuszczalnością w glebie [4].

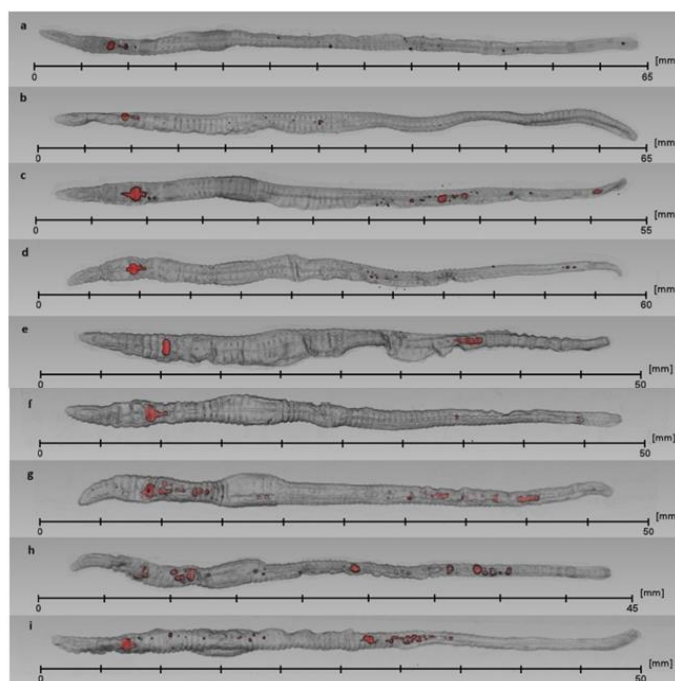
3.2. WŁAŚCIWOŚCI BIOBÓJCZE NANOCZĄSTEK SREBRA – O CO TAK NAPRAWDĘ CHODZI?

Parametry charakteryzujące własności środków bakteriobójczych:

- **MIC** (ang. Minimal Inhibitory Concentration) - minimalne stężenie hamujące – najmniejsze stężenie środka bakteriobójczego (np. antybiotyku), hamujące wzrost drobnoustrojów;
- **MBC** (ang. Minimal Bactericidal Concentration) - minimalne stężenie bakteriobójcze - najmniejsze stężenie środka bakteriobójczego (np. antybiotyku), oznaczone w warunkach *in vitro*, przy którym ginie 99 % drobnoustrojów.

Najczęściej wykorzystywane do tego typu badań są bakteryjne szczepy kliniczne izolowane od pacjentów, np. pałeczka okrężnicy (łac. *Escherichia coli*) – Gram-ujemna bakteria należąca do rodziny *Enterobacteriaceae*. *E. coli* należy do organizmów modelowych wśród bakterii [9].

Zmniejszenie liczby MBC i jednocześnie zwiększenie wydolności C zasugerowało, że substraty C pochodzące z rozkładu martwej biomasy bakteryjnej mogły utrzymać pozostałe organizmy przy życiu, ale nie zostały przez nie przyswojone. Nastąpił wtedy wzrost ilorazu metabolicznego. Iloraz metaboliczny oznacza ilość podłoża mineralizowanego na jednostkę MBC i na jednostkę czasu. Jony Co^{2+} spowodowały wzrost bakterii G- a tym samym zmniejszenie stosunku bakterii G+/G-. Bakterie te mają różne preferencje wykorzystania węgla. Stwierdzono, że bakterie Gram-dodatnie dominują w glebach z niską dostępnością podłoża, tak jak w głębszych warstwach gruntu, podczas gdy stwierdzono, że bakterie Gram-ujemne dominują w glebach o wysokiej dostępności łatwo ulegającej rozkładowi. Gram-ujemne bakterie charakteryzują się wysokim zapotrzebowaniem na składniki odżywcze, w związku z tym występuje niska efektywność wykorzystania substratów C. Różna dostępność dwóch zanieczyszczeń, mających inne powinowactwo do materii organicznej zawartej w glebie, wykazały, że Ag^+ i NAg były w większości nieruchome, a zatem ekstrahowane tylko w silnych warunkach chemicznych. Co^{2+} i NCo były bardziej aktywne i łatwiej ekstrahowane [8].



Rys. 3. Zdjęcia rentgenowskie *Lumbricus rubellus* wykonane po pięciu tygodniach trwania badań (a - próba kontrolna, b – Ag^+ , c – NAg, d – Co^{2+} , e – NCo,) i po 4 tygodniach oczyszczania (f – próba kontrolna, g - Ag^+ , h - Co^{2+} , i – NCo). Duża absorpcja promieniowania rentgenowskiego występowała w miejscach zaznaczonych na czerwono.

Fig. 3. X-ray computed micro tomography images in 3D of Lumbricus rubellus after five weeks of contaminants exposure (a- control, b- Ag^+ , c- AgNPs , d- Co^{2+} , e- CoNPs treatments) and after four weeks of depuration (f- control, g- Ag^+ , h- Co^{2+} , I - CoNPs after depuration period). The red area was denser mass in which a great adsorption of X-ray was observed.

4. BADANIA NAD TOKSYCZNYM DZIAŁANIEM FULERENÓW I KROPEK KWANTOWYCH

Produkcja i zastosowanie nanocząstek, takich jak fulereny i kropki kwantowe, wzrasta nieprzerwanie od kilkadziesiąt lat. Celem opisywanego badania było zbadanie oddziaływania nanocząstek fulerenu C_{60} na dżdżownice. Wpływ nanocząstek badano na osobnikach w różnym wieku, zaczynając kokonów a kończąc na dorosłych zwierzętach. Dżdżownice narażone na nominalne stężenie C_{60} wynoszące 154 mg/kg gleby wytworzyły znacznie mniej kokonów niż dżdżownice z próby kontrolnej (różnica wynosiła ~ 60%). Śmiertelność wśród młodych osobników była znacznie wyższa, co wskazuje na większą wrażliwość w tym stadium rozwoju. Badania dowodzą, że młode dżdżownice są bardziej wrażliwe na długoterminowe działanie nanocząstek C_{60} w porównaniu z dorosłymi osobnikami [10].

Kropki kwantowe (*ang. quantum dots – QD*) są to półprzewodnikowe nanokryształy o wielkości od 2-10 nm. Dzięki ich małemu rozmiarowi naukowcy mają wpływ na rozmiar utworzonych kryształów i ich własności. Znajdują one zastosowanie w produkcji diod LED, ogniw słonecznych, laserów małych rozmiarów oraz obrazowaniu medycznym. Ostatnie wspomniane zastosowanie kropek kwantowych możliwe jest dzięki ich własnościom tj.

pochłanianie i emitowanie światła. Swoje szczególne własności zawdzięczają ograniczonej liczbie atomów oraz średnicy kilku nanometrów. Kropki kwantowe wykazują toksyczność, przez co nie mogą być wprowadzane bezpośrednio do wnętrza żywych organizmów. Naukowcy zaczęli prowadzić badania polegające na wytwarzaniu kropek kwantowych wewnątrz grzybów i bakterii, obecnie również prowadzi się je we wnętrzu dżdżownic. Na przewod pokarmowy dżdżownicy składa się specjalna, odtruwająca powłoka usuwająca i izolująca toksyny. Glebę użytą do badań wzbogacono toksycznymi solami: chlorkiem kadmu (CdCl_2) i tellurem sodu (Na_2TeO_3). Zwierzęta umieszczono w tej glebie na okres dwóch tygodni. Ostatecznie zaobserwowano powstanie kryształków tellurku kadmu (CdTe) pokrytych związkami organicznymi w przewodzie pokarmowym dżdżownicy. Pod wpływem promieniowania ultrafioletowego kryształy te świeciły na zielono i wykazywały rozpuszczalność w wodzie, co jest niezbędne w przypadku funkcjonowania w systemach biologicznych. Tak wytworzone kropki kwantowe dodano do hodowli komórek nowotworowych pobranych od myszy. Kropki zostały wchłonięte przez komórki, które zaczęły świecić pod wpływem promieniowania UV. Dowiedziono również, że w przypadku krwinek białych należy zastosować dodatkową warstwę glikolu polietylenowego w celu ułatwienia absorpcji leków [11,12].

5. INNE BADANIA PROWADZONE NA DŹDŻOWNICACH

NANO-ECOTOXICITY to projekt zajmujący się ustaleniem dokąd trafiają nanocząstki tlenku cynku i srebra, wchodzące w skład zużytych materiałów i ich oddziaływaniem na ekosystemy lądowe. Badania prowadzone są krótkoterminowo i długoterminowo aby dowiedzieć się jak zachowują się metale podczas starzenia, czyli łączenia z abiotycznymi składnikami gleby. Powinny być one przeprowadzane w różnych odstępach czasu, ponieważ toksyczność srebra wzrasta z upływem czasu. Wyniki wskazują, że organizmy narażone na działanie nanocząstek srebra w badaniach krótkoterminowych akumulowały wyższe stężenie srebra niż organizmy narażone na działanie srebra jonowego. Nanocząstki wykazują jednak mniejszą toksyczność. Dzięki projektowi odkryto, że toksyczność nanocząstek srebra wzrasta w czasie, a ich powłoki wpływają na ich toksyczność w stosunku do bezkręgowców glebowych [7].



Rys. 4. *Lumbricus rubellus* - czerwone dżdżownice.

Fig. 4. *Lumbricus rubellus* – red earthworm.

Nanocząstki kobaltu stosowane są do produkcji magnetycznych mikrosfer polimerowych, do przechowywania informacji i energii, np. magnetografii rezonansu magnetycznego, w leczeniu raka oraz w beztlenowych systemach oczyszczania ścieków.

Przeprowadzono badanie dotyczące wpływu Ag^+ , Co^{2+} , NAg oraz NCo. Jony oraz nanocząsteczki podano dżdżownicom w postaci konnego obornika. Stwierdzono, że stężenie NCo i Co^{2+} w tkankach dżdżownic było od dwóch do trzech razy wyższe niż odpowiednio NAg i Ag^+ . Po pięciu tygodniach narażenia na skażoną żywność, stężenia Ag i Co w ciałach dżdżownic znacznie wzrosły. Zauważono gromadzenie się większej ilości NAg w tkankach, w porównaniu do Ag^+ oraz większą ilość nanocząstek Co niż jonów. Wysokie stężenie węgla w końskim oborniku powoduje osłabienie pobierania Ag przez dżdżownice, taka sytuacja jednak nie występuje w przypadku Co^{2+} [8].

6. PODSUMOWANIE

Człowiek wraz z rozwijającym się przemysłem ma znaczny wpływ na środowisko. Wynikiem tych działań jest zmiana warunków życia niektórych zwierząt, np. dżdżownic. Pokazano negatywny wpływ zbyt dużego stężenia nanocząstek różnych pierwiastków na dżdżownice. Poprzez charakterystyczny sposób odżywiania i wydalania, pierścienice wprowadzając do gleby sole mineralne (np. związki azotu, których rośliny nie pobierają z powietrza) użyźniają ją. Ich sposób poruszania i drążenie korytarzy wpływa na napowietrzanie ziemi i wspomaganie rozrostu korzeni oraz docieranie wód podziemnych bliżej powierzchni i tym samym zwiększenie jej wilgotności. Są one bardzo specyficzne, ponieważ jeden osobnik posiada komórki męskie i żeńskie, dzięki czemu do rozmnażania nie potrzebują partnerów. Dżdżownice odgrywają ważną rolę w przyrodzie.

LITERATURA

1. Solomon E. P., Berg L. R., Martin D. W., *Biologia*, wg VII wydania amerykańskiego, Warszawa MULTICO Oficyna Wydawnicza, 2012, ISBN 978-83-7763-200-0
2. https://pl.wikipedia.org/wiki/Kompostowiec_r%C3%B3%C5%BCowy
3. Borkowska-Gorażczko E., *Dżdżownice kalifornijskie - hodowla dżdżownic kalifornijskich*, „Murator” [online], Dostępny w Internecie: <http://murator.com.pl/ogrod/pielęgnacja-ogrodu/czy-warto-miec-dzdzownice,127_1100.html>
4. Diez-Ortiz M., Lahive E., George S., Ter Schure A., Van Gestel C.A.M., Jurkschat K., Svendsen C., Spurgeon D. J., *Short-term soil bioassays may not reveal the full toxicity potential for nanomaterials; bioavailability and toxicity of silver ions (AgNO_3) and silver nanoparticles to earthworm *Eisenia fetida* in long-term aged soils*, *Environmental Pollution* 203, 2015, s. 191 - 198.
5. „*KOSMETYKI – CHEMIA DLA CIAŁA*” red. G. Schroeder, 2011, CURSIVA, Rozdział 8, *Synteza, właściwości fizykochemiczne oraz zastosowania nanocząstek srebra w kosmetyce*, s. 163 – 180.
6. NanoTraffic – Result in Brief *Silver and Titanium nanoparticles in fish cell toxicity studies*, Switzerland, 2015
7. *Niedostrzegalne skutki nanocząstek w centrum uwagi* [online], Dostępny w Internecie: <<http://laboratoria.net/technologie/19493.html>>
8. Antisaria V. L., Carbone S., Gatti A., Ferrando S., Nacucchi M., Pascalis F., Gambardella C., Badalucco L., Laudicina V. A., *Effect of cobalt and silver nanoparticles and ions on*

- Lumbricus rubellus* health and on microbial community of earthworm faeces and soil, „Applied Soil Ecology” Italy, 2016, s. 62 - 71.
9. Kujda M., Oćwieja M., Adamczyk Z., *Właściwości biobójcze nanocząstek srebra* [online], Dostępny w Internecie: <<http://www.ik-pan.krakow.pl/funano/L11%20Kujda.pdf>> IKiFP im. J. Habera PAN.
 10. M. J. C. van der Ploeg, Baveco J. M., A. van der Hout, Bakker R., Rietjens I. M. C. M., N. W. van den Brink, *Effects of C60 nanoparticle exposure on earthworms (Lumbricus rubellus) and implications for population dynamics*, „Environmental Pollution” Netherlands, 2011, s. 198 – 203.
 11. *I dżdżownica może być nanotechnologiem* [online], [dostęp 7 stycznia 2013], Dostępny w Internecie: <<http://naukawpolsce.pap.pl>>
 12. Czuba K., *Zastosowanie kropek kwantowych w biologii i medycynie* [online], Dostępny w Internecie: < <http://laboratoria.net/arttykul/21025.html> >

ZDJĘCIA

1. https://en.wikipedia.org/wiki/Eisenia_fetida#/media/File:Redwiggler1.jpg
2. <https://brainly.pl/zadanie/7041023>
3. http://www.columbia.edu/itc/cerc/danoffburg/invasion_bio/inv_spp_summ/worm_lumbricus.jpg
4. Antisaria V. L., Carbone S., Gatti A., Ferrando S., Nacucchi M., Pascalis F., Gambardella C., Badalucco L., Laudicina V. A., *Effect of cobalt and silver nanoparticles and ions on Lumbricus rubellus health and on microbial community of earthworm faeces and soil*, „Applied Soil Ecology” Italy, 2016, s. 62 – 71.