

Ewa KARWOWSKA, Ewa MIAŚKIEWICZ-PĘSKA, Monika ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ

Politechnika Warszawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Zakład Biologii
ul. Nowowiejska 20, 00-653 Warszawa
e-mail: ewa.karwowska@is.pw.edu.pl

Wpływ nanoproduktów na wybrane organizmy - ocena ekotoksykologiczna

Wzrost zainteresowania wykorzystaniem różnorodnych nanomateriałów w technologii, przemyśle, medycynie i życiu codziennym skutkuje zwiększeniem ich produkcji, a w konsekwencji - emisji do środowiska naturalnego. Ze względu na liczne doniesienia o negatywnym wpływie nanocząstek na komórki drobnoustrojów, roślin i zwierząt niezbędna jest ocena ich oddziaływania na środowisko. Jest to szczególnie istotne w przypadku nowo syntetyzowanych produktów, mogących znaleźć potencjalne zastosowanie w przemyśle czy gospodarce. W niniejszych badaniach podjęto próbę oceny przydatności standardowych testów ekotoksykologicznych z wykorzystaniem organizmów reprezentujących różne poziomy troficzne (DAPHTOXKIT, THAMNOTOXKIT, ALGALTOXKIT, PHYTOTOXKIT) w procesie wyboru nanomateriałów o potencjalnie najmniejszym oddziaływaniu na środowisko. Przedmiotem analiz były nowo zsyntetyzowane nanoproszki (ZnO, ZnO-S, TiO₂, TiO₂-Ag, TiO₂-Ag₂O, TiO₂-Pd, TiO₂-PdO, TiO₂-Au) i nanożele (nano-kserożel TiO₂-SiO₂-Ag i nano-aerożele: TiO₂-SiO₂ oraz TiO₂-Ag/N/C), mogące w przyszłości znaleźć zastosowanie jako składnik opakowań do przechowywania żywności. Eksperymenty pozwoliły na stwierdzenie znacznego zróżnicowania testowanych nanopreparatów pod względem toksyczności, jak również różnej wrażliwości organizmów testowych na badane substancje. Potwierdziły również przydatność standardowych testów ekotoksykologicznych oraz testów wzrostowych do oceny potencjalnego wpływu nanocząstek na środowisko, pozwalając na wstępne wytypowanie produktów najmniej toksycznych spośród testowanych nanomateriałów.

Słowa kluczowe: nanocząstki, ekotoksyczność, opakowania do żywności

Wstęp

Wzrost zainteresowania wykorzystaniem różnorodnych nanomateriałów w technologii, przemyśle, medycynie i życiu codziennym skutkuje zwiększeniem ich produkcji, a w konsekwencji - emisji do środowiska naturalnego. W 2008 r. na prace badawczo-rozwojowe z zakresu nanotechnologii przeznaczono ponad 15 mld dolarów [1]. Produkcja nanomateriałów w 2004 r. kształtowała się na poziomie 2000 ton, podczas gdy do 2020 r. prognozuje się jej wzrost do 58 000 ton [2]. Jednocześnie pojawiają się liczne doniesienia na temat negatywnego wpływu różnego rodzaju nanoproduktów (nanometali, nanotlenków metali, nanorurek węglowych, nanocząstek na bazie oksygrafenu i chitozanu) na organizmy: bakterie, glony, grzyby, rośliny, drobne bezkręgowce i ryby [3-7]. Istnieją również dane potwierdzające ich szkodliwe oddziaływanie na komórki ssaków, powodujące między innymi efekty cytotoksyczne, niestabilność chromosomów czy apoptozę [5].

Aktywność biologiczna nanocząstek jest zależna od ich rozmiaru, składu chemicznego, struktury powierzchni, rozpuszczalności, kształtu i skłonności do agregacji, jak również warunków środowiskowych, w tym pH, zasolenia oraz obecności materii organicznej [3, 8]. Jako potencjalne mechanizmy oddziaływania wskazuje się wpływ na strukturę i funkcjonowanie błon komórkowych, zaburzenia procesów metabolicznych na skutek tworzenia się reaktywnych form tlenu oraz negatywny wpływ na aktywność enzymów i syntezę DNA [9, 10]. Nanopreparaty wywierają toksyczny wpływ na organizmy już w stężeniach poniżej 0,5 mg/l [10]. Wykazano, że sztucznie syntetyzowane nanocząstki mogą wchodzić w interakcje z innymi zanieczyszczeniami, wpływając na ich ekotoksyczność [3].

Ocena oddziaływania nanomateriałów na środowisko jest szczególnie istotna w przypadku nowo syntetyzowanych produktów, zwłaszcza tych o potencjale komercyjnym [8]. Dotyczy to w szczególności nanopreparatów wykorzystywanych w produkcji materiałów opakowaniowych do żywności. Tego rodzaju opakowania, ze względu na powszechność stosowania, mogą stanowić źródło zanieczyszczenia środowiska nanomateriałami [11].

Dodatek nanokomponentów do materiałów mających kontakt z żywnością stosuje się w celu polepszenia właściwości mechanicznych i ochronnych, jak również jako czynnik przeciwdziałający rozwojowi mikroorganizmów. Uzyskanie materiału o właściwościach antybakteryjnych możliwe jest na drodze wbudowywania czynnika antybakteryjnego w strukturę polimeru, dołączania go do cząstek polimeru za pośrednictwem wiązań kowalencyjnych lub jonowych czy też powlekania powierzchni opakowania substancją antybakteryjną [12].

Właściwości antybakteryjne opakowań uzyskuje się najczęściej poprzez wykorzystanie nanoskładników na bazie srebra [1, 12]. Nanocząstki srebra o wymiarach 5÷90 nm stosowano między innymi w opakowaniach na owoce i warzywa, notując spadek liczebności bakterii o 2-6 rzędów wielkości [5]. Pozytywne efekty obserwowano również w przypadku soków owocowych i produktów mięsnych [1]. Jako obiecujące wskazuje się również wykorzystanie nanocząstek zawierających miedź, tytan i cynk [5]. Cárdenas i inni [13] uzyskali materiał opakowaniowy na bazie chitozanu z dodatkiem nanomiedzi w postaci koloidalnej, wykazujący właściwości antybakteryjne względem *Staphylococcus aureus* i *Salmonella enterica*. Zastosowanie nanocząstek miedzi na nośniku celulozowym lub chitozanowym powodowało inhibicję wzrostu bakterii o 3-4 rzędy wielkości [5]. Tankhiwale i Bajpai [14] przetestowali właściwości antybakteryjne folii polietylenowej z dodatkiem nanotlenku cynku względem bakterii *Escherichia coli*. Nanocząstki TiO₂ (przy naświetlaniu UV) wykazywały efektywne działanie względem występujących w żywności bakterii *Salmonella choleraesuis*, *Vibrio parahaemolyticus* i *Listeria monocytogenes* [1]. Pojawiają się również propozycje wykorzystania w opakowaniach nanomateriałów na bazie grafenu w formie nanopłytek lub nanorurek [15].

Ze względu na potencjalne oddziaływanie toksyczne i ekotoksyczne kluczowe jest określenie stopnia uwalniania nanocząstek z materiału opakowaniowego i ich ewentualnego kumulowania się w pakowanej żywności, jak również emisji do środowiska z zużytych opakowań, zwłaszcza że stężenia nanokomponentów w materia-

łach opakowaniowych mogą sięgać 5% [1]. Możliwość uwalniania się toksycznych nanocząstek z matrycy materiału opakowaniowego (co ma często miejsce w przypadku zastosowania nanomateriałów na bazie srebra) powinna dyskwalifikować go pod względem przydatności do bezpośredniego kontaktu z żywnością [5].

Zastosowanie w produkcji opakowań do żywności nowo syntetyzowanych nanopreparatów musi być także poprzedzone oceną ich wpływu na środowisko.

W niniejszych badaniach podjęto próbę oceny przydatności konwencjonalnych testów ekotoksykologicznych z wykorzystaniem organizmów reprezentujących różne poziomy troficzne w procesie wyboru nanomateriałów o najmniejszej ekotoksyczności. Przedmiotem analiz były nowo zsyntetyzowane nanocząstki, rozważane jako potencjalny składnik opakowań do przechowywania żywności.

1. Metodyka badań

Przedmiotem badań były nowo zsyntetyzowane nanocząstki: nanoproszki i nanozele, wyprodukowane w ramach prac prowadzonych w projekcie SMARTPACK ERA-NET, dotyczącym uzyskania materiałów opakowaniowych do żywności o właściwościach antybakteryjnych. Nanopreparaty (10 rodzajów) wytworzone zostały na Wydziale Chemii Politechniki Warszawskiej (nanoproszki ZnO, ZnO-S, TiO₂-Ag, TiO₂-Ag₂O, TiO₂-Pd, TiO₂-PdO, TiO₂-Au) oraz na Uniwersytecie w Baia Mare (nano-kserożel TiO₂-SiO₂-Ag) i Uniwersytecie w Cluj Napoca (nano-aerozele TiO₂-SiO₂ i TiO₂-Ag/N/C) w Rumunii. Wykonano także testy z wykorzystaniem komercyjnego nanoproszku TiO₂.

Ocenę właściwości antybakteryjnych i przeciwgrzybowych analizowanych nanocząstek przeprowadzono z wykorzystaniem testów wzrostowych na podłożach stałych (odpowiednio: agarowym odżywcym dla bakterii oraz podłożu wg Sabourauda dla grzybów). Wykorzystano następujące powszechnie występujące w środowisku szczepy bakterii: *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Sarcina lutea*, *Bacillus sp.*, *Arthrobacter sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter sp.*, grzybów pleśniowych - z rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium* i *Trichothecium* oraz drożdży - z rodzaju *Candida*. Szczepy pochodziły z kolekcji własnej Zakładu Biologii Wydziału Inżynierii Środowiska PW.

Zawiesinę komórek danego szczepu bakterii lub grzybów rozprowadzano na powierzchni podłoża, a następnie наносzono punktowo nanopreparat w postaci nanoproszku lub nanożelu. Po okresie inkubacji (48 h, w temp. 26 lub 37°C w zależności od gatunku w przypadku bakterii oraz 5 dni w temp. 26°C w przypadku grzybów) wykonywano obserwację występowania stref zahamowania wzrostu drobnoustrojów wokół nanopreparatu.

W ramach badań zastosowano komercyjne testy ekotoksykologiczne, pozwalające na oszacowanie toksyczności ostrej: DAPHTOXKIT (organizmy testowe: *Daphnia magna*), THAMNOTOXKIT (organizmy testowe: *Thamnocephalus platyurus*), ALGALTOXKIT (z użyciem glonów *Raphidocelis subcapitata*) oraz PHYTOTOXKIT (test z wykorzystaniem roślin wyższych: *Sorghum saccharatum* i *Lepidium sativum*).

W testach z użyciem glonów i skorupiaków stosowano zawiesinę badanych nanopreparatów w zakresie stężeń 0,5÷1000 mg/l. Zawiesinę nanocząstek sporządzono poprzez sonikację nanoproszku/nanożelu w wodzie destylowanej. Czas trwania testu wynosił od 24 do 72 h - zgodnie z instrukcją producenta dla określonego typu testu.

W testach z użyciem roślin wyższych nanoproszek mieszano z glebą referencyjną w stężeniach odpowiednio 100, 500 i 1000 mg/kg. Po 3 dniach dokonywano pomiaru długości korzeni siewek oraz szacowano wydajność kiełkowania roślin.

Poziom ekotoksyczności szacowano z wykorzystaniem kryteriów Unii Europejskiej [16, 17], w oparciu o uzyskane w testach wartości $LC_{50/t}$ i $EC_{50/t}$, przyjmując odpowiednio skalę:

< 0,1 mg/l - ekstremalnie toksyczne,

0,1÷1,0 mg/l - bardzo toksyczne,

1,0÷10 mg/l - toksyczne,

10÷100 mg/l - szkodliwe,

> 100 mg/l - nietoksyczne.

2. Omówienie i dyskusja wyników badań

Przeprowadzone testy wzrostowe wykazały, iż badane nanocząstki charakteryzowały się zróżnicowanym oddziaływaniem antibakteryjnym (tab. 1). Najsilniejsze zahamowanie wzrostu bakterii stwierdzono w przypadku nanocząstek zawierających srebro oraz cynk. Właściwościami antibakteryjnymi charakteryzowały się również nanożele: TiO_2 -Ag/N/C, TiO_2 - SiO_2 oraz TiO_2 - SiO_2 -Ag (rys. 1). Niektóre spośród nanocząstek, zwłaszcza zawierające srebro i cynk, hamowały wzrost grzybów pleśniowych oraz drożdży z rodzaju *Candida* (rys. 2).

Tabela 1. Inhibicja wzrostu mikroorganizmów w obecności badanych nanopreparatów

Table 1. Inhibition of the microbial growth in the presence of tested nanoproducts

Mikroorganizmy	Nanopreparaty										
	ZnO	ZnO-S	TiO ₂	TiO ₂ -Ag	TiO ₂ -Ag ₂ O	TiO ₂ -Pd	TiO ₂ -PdO	TiO ₂ -Au	TiO ₂ -SiO ₂ -Ag	TiO ₂ -SiO ₂	TiO ₂ -Ag/N/C
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	++	++	-	-	-	++	-	++
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	+	-	+	+	-	-	-	++	-	++
<i>Citrobacter sp.</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	++
<i>Sarcina lutea</i>	++	++	nb	nb	nb	nb	nb	nb	++	+	++
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	++	nb	nb	nb	nb	nb	nb	++	+	++
<i>Bacillus sp.</i>	-	-	-	++	++	-	-	-	++	-	++
<i>Arthrobacter sp.</i>	nb	nb	-	++	+	-	-	-	nb	nb	nb
<i>Aspergillus sp.</i>	++	+	-	+	+	-	-	-	-	-	++
<i>Penicillium sp.</i>	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
<i>Trichothecium sp.</i>	nb	nb	-	+	+	-	-	-	nb	nb	nb
<i>Candida sp.</i>	+	-	-	++	++	-	-	-	-	-	+

++ - silna inhibicja, + - niewielka inhibicja, -- brak inhibicji, nb - nie badano



Oznaczenia na płytkach: Ti = TiO_2 , Au = $\text{TiO}_2\text{-Au}$, Pd = $\text{TiO}_2\text{-PdO}$, Pd_{zred} = $\text{TiO}_2\text{-Pd}$, Ag = $\text{TiO}_2\text{-Ag}_2\text{O}$, Ag_{zred} = $\text{TiO}_2\text{-Ag}$, A1 = $\text{TiO}_2\text{-Ag/N/C}$, A2 = $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$, X = $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2\text{-Ag}$, pozostałe - jak w metodyce badań

Rys. 1. Przykładowe płytki testowe z wzrostowych testów bakteryjnych

Fig. 1. The examples of antibacterial activity growth tests



Oznaczenia na płytkach: Ti = TiO_2 , Au = $\text{TiO}_2\text{-Au}$, Pd = $\text{TiO}_2\text{-PdO}$, Pd_{zred} = $\text{TiO}_2\text{-Pd}$, Ag = $\text{TiO}_2\text{-Ag}_2\text{O}$, Ag_{zred} = $\text{TiO}_2\text{-Ag}$, A1 = $\text{TiO}_2\text{-Ag/N/C}$, A2 = $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$, X = $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2\text{-Ag}$, pozostałe - jak w metodyce badań

Rys. 2. Przykładowe płytki testowe z wzrostowych testów z użyciem grzybów

Fig. 2. The examples of antifungal activity growth tests

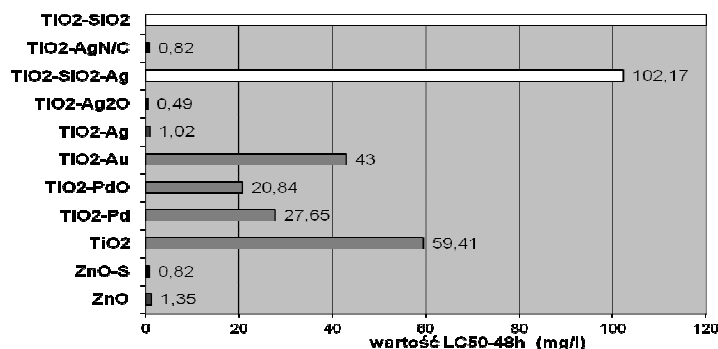
Wyniki przeprowadzonych testów wzrostowych z użyciem wybranych szczepów bakterii i grzybów są zgodne z dostępnymi danymi z piśmiennictwa. Duncan [1] podaje, że antybakteryjne oddziaływanie nanocząstek srebra stwierdzano w przypadku takich bakterii, jak: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. oleovorans*, *Shigella flexneri*, *Bacillus anthracis*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica*, *Micrococcus luteus*, *Listeria monocytogenes* i *Klebsiella pneumoniae*, jak również wobec drożdży *Candida albicans* i pleśni *Aspergillus niger*. Handy i inni [3] potwierdzili antybakteryjne właściwości nanocząstek TiO_2 i Ag, natomiast Nowack i Bucheli [18] - nanocząstek na bazie TiO_2 , SiO_2 i ZnO . Do nanopreparatów o potencjalnych właściwościach antybakteryjnych zalicza się też tlenek magnezu, miedź oraz tlenek miedzi [1].

W przypadku materiałów opakowaniowych skuteczność antybakteryjnego działania nanocząstek zależy w znacznej mierze od warunków środowiskowych. Przykładowo właściwości biobójcze nanocząstek srebra w materiale opakowaniowym badane dla środowiska wodnego występowały przy stężeniu nanosrebra $0,05 \div 0,1$ mg/kg, podczas gdy w obecności białka (warunki imitujące przechowywanie żywności) - $10 \div 100$ mg/kg [5].

Skuteczność oddziaływania antybakteryjnego jest w znacznym stopniu uwarunkowana właściwościami nanocząstek, takimi jak m.in.: wielkość, kształt czy powierzchnia właściwa. Przykładowo, minimalne stężenie inhibicyjne dla nanocząstek srebra o średnicy $45 \div 50$ nm wynosiło $2 \div 4$ mg/dm³ w przypadku bakterii *Escherichia coli* i *Vibrio cholerae* [1].

Dobór testów ekotoksykologicznych zastosowany w pracy miał na celu ocenę wpływu nanocząstek na organizmy reprezentujące zróżnicowane poziomy troficzne oraz środowisko wodne i glebowe. Eksperymenty wykazały, że niektóre z testowanych nanopreparatów miały właściwości ekotoksyczne lub silnie ekotoksyczne - zwłaszcza te, które zawierały w swojej strukturze atomy srebra (rys. 3). Stąd też pomimo równoczesnej aktywności antybakteryjnej lub antygrzybowej zdecydowanie nie rekomendowano ich wykorzystania w dalszych pracach nad wytworzeniem opakowań do żywności.

Wobec faktu, iż większość testowanych nanopreparatów wyprodukowano na bazie TiO₂, wydaje się, że o poziomie ekotoksyczności mogły decydować przede wszystkim modyfikacje w obrębie cząstek (dodatek metalu, tlenku metalu czy SiO₂). Według Bystrzejewskiej-Piotrowskiej i innych [9], modyfikacje powierzchni nanocząstek mogą znacząco wpływać na poziom ich toksyczności.

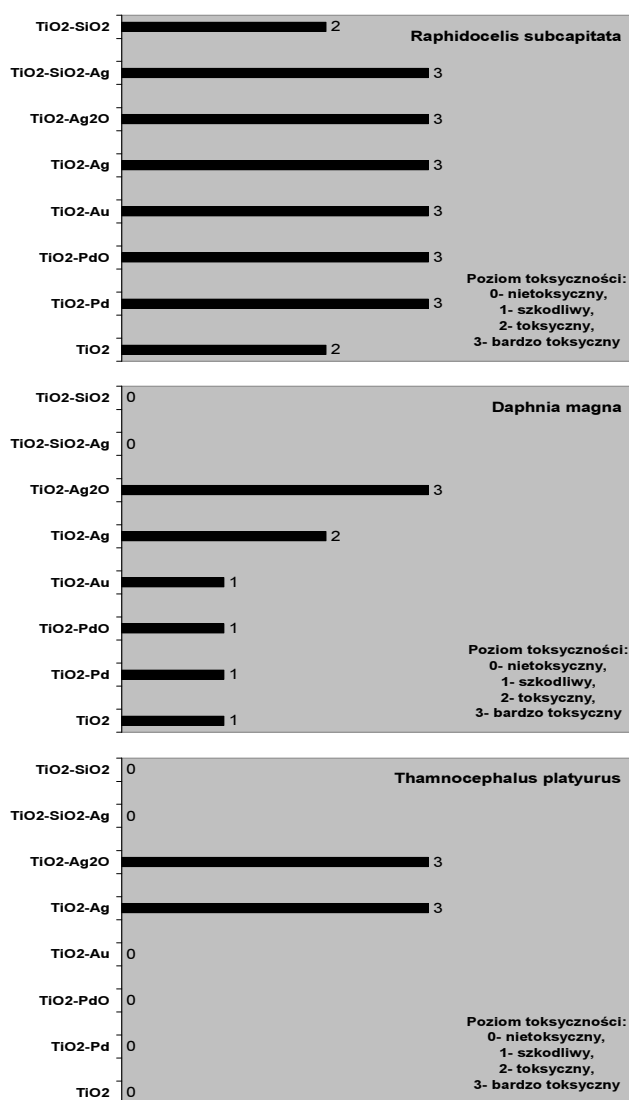


Rys. 3. Wartości LC_{50-48h} uzyskane w teście DAPHTOXKIT z wykorzystaniem skorupiaków *Daphnia magna*

Fig. 3. LC_{50-48h} values obtained in DAPHTOXKIT test, applying *Daphnia magna* crustaceans

Należy podkreślić, że wpływ nanocząstek był zróżnicowany w zależności od rodzaju organizmów testowych (rys. 4). Glony okazały się organizmami najbardziej wrażliwymi, co potwierdza znaczące zagrożenie w przypadku emisji nanozanieczyszczeń do środowiska wodnego. Jest to istotna informacja, zwłaszcza że istnieją dane potwierdzające, iż np. nanocząstki ZnO mogą wpływać negatywnie na rozwój

kijanek żaby *Xenopus laevis*, na glony *Pseudokirchneriella subcapitata* oraz ryby *Danio rerio* [10].

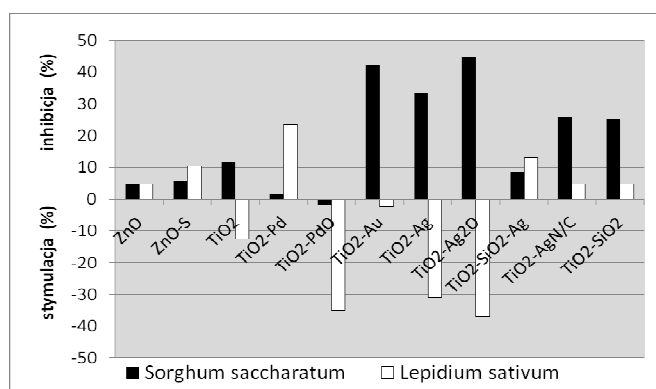


Rys. 4. Porównanie ekotoksyczności nanopreparatów względem organizmów testowych

Fig. 4. Comparison of toxicity level of nanopreparations in case of tested organisms

W przypadku poszczególnych gatunków roślin uprawnych zaobserwowano zarówno efekty stymulacji, jak i zahamowania wzrostu (rys. 5). Dostępne dane z piśmiennictwa mówią o negatywnym wpływie nanocząstek zawierających cynk (np. nanotlenku cynku) na kiełkowanie i wzrost roślin uprawnych, co stwierdzono również w niniejszych badaniach, aczkolwiek efekt inhibicji (bądź stymulacji)

wzrostu korzenia siewek roślin testowych był zdecydowanie bardziej zauważalny w przypadku nanocząstek zawierających srebro, złoto czy pallad.



Rys. 5. Wpływ badanych nanocząstek w stężeniu 1000 mg/kg s.m. gleby na testowe rośliny wyższe (% inhibicji/stymulacji wzrostu korzenia)

Fig. 5. The influence of nanoparticles in concentration 1000 mg/kg of soil dry weight on tested higher plants (% of inhibition/stimulation of root growth)

Na podstawie przeprowadzonych testów do dalszych prac w zakresie opracowania materiału opakowaniowego do żywności rekomendowano nanożele z dodatkiem krzemionki, których poziom ekotoksyczności był niższy w porównaniu z nanocząstkami na bazie TiO₂ z dodatkiem metali i tlenków metali oraz nanocząstkami z dodatkiem cynku przy jednoczesnym zachowaniu właściwości antybakteryjnych.

Podsumowanie

Specyficzne właściwości sztucznie wytwarzanych nanocząstek, jak również możliwość ich uwalniania się z syntetyzowanych z ich użyciem produktów, w tym materiałów opakowaniowych, stwarza konieczność szczególnej kontroli już na etapie projektowania składu i sposobu ich otrzymywania. Badania ekotoksykologiczne pozwalają na wybór nanokomponentów o potencjalnie najmniejszym negatywnym oddziaływaniu na środowisko, przy czym istotny jest odpowiedni dobór organizmów testowych.

Uzyskane wyniki badań ekotoksyczności przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy pozwoliły na wyeliminowanie z dalszych prac nanopreparatów o zdecydowanie negatywnym wpływie na organizmy, potwierdzając tym samym przydatność standaryzowanych testów typu TOXKIT w procesie wstępnego typowania nanoproduktów najmniej ekotoksycznych.

Podziękowania

Badania stanowiły część międzynarodowego projektu „SMARTPACK” w ramach programu ERA-NET MNT.

Literatura

- [1] Duncan T.V., Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors, *Journal of Colloid and Interface Science* 2011, 363, 1-24.
- [2] Maynard A.D., *Nanotechnology. A Research Strategy for Addressing Risk*, Woodrow Wilson International Center for Scholars, Washington 2006.
- [3] Handy R.D., von der Kammer F., Lead J.R., Hassellöv M., Owen R., Crane M., The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles, *Ecotoxicology* 2008, 17, 287-314.
- [4] Yon Ju-Nam, Lead J.R., Manufactured nanoparticles: An overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications, *Science of the Total Environment* 2008, 400, 396-414.
- [5] Llorens A., Lloret E., Picouet P.A., Trbojevič R., Fernandez A., Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging, *Trends in Food Science & Technology* 2012, 24, 19-29.
- [6] Karwowska E., Mrozowicz M., Zawada A., Ząbkowski T., Ziemkowska W., Kunicki A.R., Olszyna A., Impact of Al₂O₃ nanopowders characterised by various physicochemical properties on growth of green alga *Scenedesmus quadricauda*, *Advances in Applied Ceramics* 2012, 111, 3, 142-148.
- [7] Chrzanowska N., Załęska-Radziwiłł M., The impacts of aluminum and zirconium nano-oxides on planktonic and biofilm bacteria, *Desalination Water Treatment* 2014, DOI: 10.1080/19443994.2014.884528.
- [8] Nel A., Xia T., Mädler L., Li N., Toxic potential of materials at the nanolevel, *Science* 2006, 311, 622-627.
- [9] Bystrzejewska-Piotrowska G., Golimowski J., Urban P.L., Nanoparticles: Their potential toxicity, waste and environmental management, *Waste Management* 2009, 29, 2587-2595.
- [10] Łebkowska M., Załęska-Radziwiłł M., Występowanie i ekotoksyczność nanocząstek, *Ochrona Środowiska* 2011, 33, 4, 23-26.
- [11] Boxall A., Chaundhry Q., Sinclair C., Jones A., Aitken R., Jefferson B., Watts C., Current and future predicted environmental exposure to engineered nanoparticles, Health & Environmental Research Online, Technical Report, Central Science Laboratory, York, UK 2007.
- [12] Appendini P., Hotchkiss J.H., Review of antimicrobial food packaging, *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2002, 3, 113-126.
- [13] Cárdenas G., Días J., Meléndrez M.F., Cruzat C., Garcia Cancino A., Colloidal Cu nanoparticles/chitosan composite film obtained by microwave heating for food package applications, *Polymer Bulletin* 2009, 62, 511-524.
- [14] Tankhiwale R., Bajpai S.K., Preparation, characterization and antibacterial applications of ZnO-nanoparticles coated polyethylene films for food packaging, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2012, 90, 16-20.
- [15] Arora A., Padua G.W., Review: Nanocomposites in food packaging, *Journal of Food Science* 2010, 75, 1, R43-R49.
- [16] Dyrektywa Komisji 93/67/EWG z dnia 20 lipca 1993 r. ustanawiająca zasady oceny ryzyka dla człowieka i środowiska naturalnego ze strony substancji notyfikowanych zgodnie z dyrektywą Rady 67/548/EWG.
- [17] Załęska-Radziwiłł M., Łebkowska M., Systemy oceny zagrożenia środowiska wodnego, *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 2003, 6, 1, 7-15.
- [18] Nowack B., Bucheli T.D., Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment, *Environmental Pollution* 2007, 150, 5-22.

Impact of Nanoproducts on Selected Organisms - the Ecotoxicological Assessment

The increasing interest concerning the application of nanomaterials in the technology, industry, medicine and everyday life results in their increasing production and - in consequence - emission to the natural environment. However, numerous scientific data confirm the negative influence of different nanoproducts (nano-metals, metal nano-oxides, carbon nanotubes, nanoparticles synthesized based on oxygraphene and chitosan) on organisms: bacteria, algae, fungi, small invertebrates, fish. The negative effect of nanoparticles on animal cells was also observed. The impact on the structure and functioning of cell membranes, disorders in metabolic processes in a result of the creation of reactive oxygen forms (ROS) as well as the impact on the activity of the cell enzymes and DNA synthesis are indicated as the potential mechanisms of the negative influence of nanomaterials. The evaluation of the intensity of nanoparticles' impact on the environment is particularly important in case of newly-synthesized products, which may be potentially applied in practice, for example in the industry. In this research it was attempted to assess the suitability of standard ecological tests (DAPHTOXKIT, THAMNOTOXKIT, ALGALTOXKIT, PHYTOTOXKIT) as well as growth tests with an application of selected strains of bacteria and fungi in order to select the nanomaterials of the lowest influence on the environment. The analyses were focused on newly-synthesized nanoparticles in form of nanopowders (ZnO, ZnO-S, TiO₂, TiO₂-Ag, TiO₂-Ag₂O, TiO₂-Pd, TiO₂-PdO, TiO₂-Au) or nanogels (nano-xerogel TiO₂-SiO₂-Ag and nano-aerogels: TiO₂-SiO₂ and TiO₂-Ag/N/C), of the potential application in future as components of materials to produce packages for the food storage. The selection of the test procedures allowed to determine the influence of tested nanoparticles on the organisms representing different trophic levels. The experiments confirmed that some of the tested materials were toxic or strongly toxic, especially those containing atoms of silver. Because of this, they shouldn't be applied for the production of food packages, though they revealed the significant antibacterial and antifungal properties. It was also observed that the impact of nanoparticles on tested organisms was diverse, depending on the kind of the organisms. Algae appeared as the most sensitive, which confirmed the significant risk related to the emission of nano-wastes into the water environment. On the other hand, some terrestrial plants revealed both growth inhibition and stimulation effects in the presence of tested nanomaterials. The experiments confirmed the suitability of standard ecotoxicological tests as well as the growth tests for the assessment of the potential influence of newly-synthesized nanoparticles on the natural environment and allowed to pre-select the nanoproducts of the comparatively lowest ecotoxicity.

Keywords: nanoparticles, ecotoxicity, food packages