Ólom és ón alapú mikro- és nanorészecskék toxikológiájának összehasonlító vizsgálata HaCaT sejtvonalakon

ALBERT Krisztina[1,4], **DÁVID Adrienn-Dorisz**[1], **SZALMA Lilla**[2], **BUKOR Tamás**[2], **LICĂRETE Emilia**[1], **PAP Zsolt**[1,2,3], **KERESZTES Lujza**[1], **BAIA Lucian**[4]

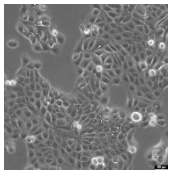
1 Babeş–Bolyai Tudományegyetem, Biológia és Geológia Kar, Republicii 44, Kolozsvár, RO400015
2 Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatika Kar, Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék, Rerrich Béla tér 1, Szeged, HU-6720
3 Babeş–Bolyai Tudományegyetem, 3B Központ, Clinicilor, Kolozsvár, RO-40006
4 Babeş–Bolyai Tudományegyetem, Fizika Kar, Fizika Doktori Iskola, Mihail Cogălniceanu 1, Kolzsvár, 400084

a.krisztinaaa@gmail.com

Bevezetés

A nanotechnológia és a megújuló energiaforrások, köztük a harmadik generációs perovszkit alapú napelemek, gyors elterjedése révén egyre több nanoanyag jut be a környezetbe, ami növeli a humán expozíció kockázatát. Mivel a bőr az emberi szervezet egyik elsődleges fizikai védőgátja, a különböző ipari nanorészecskékkel és e-hulladék komponensekkel történő érintkezése kiemelt toxikológiai figyelmet érdemel. A humán keratinocita sejtvonalak(HaCaT sejtvonal) elterjedtek toxikológiai vizsgálatokban, mivel nem tuomor, monoklonális sejtvonal, normális morfogenézist mutat.

A fotovoltaikus iparban kiemelkedő szerepet kapó szervetlen perovszkitok, mint a cézium-ólom-jodid ($CsPbI_3$), kiváló optoelektronikai tulajdonságokkal bírnak, azonban az ólomtartalom miatt jelentős környezeti- és egészségügyi kockázatot hordoznak. A cézium-ón-jodid (Cs_2SnI_6)ezzel szemben jó alternatíva lehet, mivel környezetbarátabb jelleget és kedvezőbb stabilitást ígér. Kutatásunk fő célkitűzése a perovszkitok előállítása, valamint a HaCaT keratinocita sejtvonalak modellként való felhasználásával az ólom- és ón-tartalmú perovszkit nanorészecskék összehasonlító toxikológiai vizsgálata voltak.



1. ábra: HaCaT sejkulúra

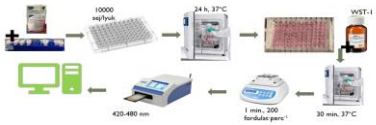
Anyagok és módszerek

$CsPbI_3$ és Cs^2SnI_6 előállítása:
A $CsPbI_3$ nanokristályokat hidrotermális módszerrel állítottuk elő. A CsI-t és a PbI_2-t DMF-ben oldottuk fel, majd toluolt adtunk hozzá a kicsapódás indításához. A keveréket teflonbéléses autoklávba helyeztük, és 130 ° C-on, 150 ° C-on vagy 180 ° C-on melegítettük 8 órán keresztül. Lehűlés után a terméket acetonos ismételt centrifugálással mostik, 39 ° C-on 24 órán át szárítottuk, majd finom porrá őröltük.
A Cs2SnI6 előállítását hidrotermális módszerrel végeztük. HI-ban feloldottuk a CsCO3-at és Sn(OOCH3)2-ot, majd egy órát kevertettük. Az elegyet autoklávba helyeztük, és 120 ° C, 150 ° C és 180 ° C hőmérsékleten 2 órát melegítettük. A kapott terméket izopropanollal mostuk, majd 1 napig szárítottuk 40 ° C-on , majd finom porrá őröltük.

Anyagok morfológiai és optikai tulajdonságainak vizsgálata:
Röntgendiffrakció (XRD): a kristályszerkezetet egy Rigaku Miniflex II diffraktométerrel végeztük. Az alkalmazott vizsgálati paraméterek: $\lambda_{CuK\alpha}$ = 0,15406 nm monokromatikus röntgenforrás, 30 kV gyorsítófeszültség és 15 mA áramerősség voltak. A diffraktogramokat 2θ = 10° és 90° között vettük fel, 1 (2θ°) ·perc^{-1}-es adatgyűjtési sebességgel és 0,02 (2θ°) -os lépték mellett.
Diffúz reflexiós spektroszkópia (DRS): a spektrumok integráló gömbös feltéttel ellátott és fotoelektron-sokszorozó detektorral felszerelt Shimadzu UV-3600 Plus UV-Vis-NIR spektrofotométerrel lettek felvéve 200 és 800 nm között. Az alkalmazott felbontás 1 nm. A műszerben referenciaként $BaSO_4$ volt, a fényforrások egy 50 W-os deutérium és halogén lámpák voltak.
Pásztázó elektronmikroszkópia (SEM): A méréseket Hitachi S-4700 Type II hidegkatódos téremissziós elektronmikroszkóppal végeztük. A detektáláshoz a felső másodlagos elektron detektort (SE(U)) használtunk. A mérés során használt nagyfeszültség 1,5 kV, a gyorsítófeszültség pedig 10 kV volt. A vizsgálat előtt a minták felületét Quoron Technologies SC7620 típusú készülékkel, 12 mA plazmaárammal aranybevonattal láttuk el.

Sejt proliferációs kísérleti sorozat:
1. A 96 lyukú ELISA csíklemezre, lyukanként 10000 HaCaT sejtet helyeztünk, amelyre rápipettáztuk a tápoldatot és a vizsgált anyag szuszpenzióját, melyeknek össztérfogata 100 µL volt.
2. A sejteket ezután 24 órán át inkubáltuk, 37°C-on.
3. A 24 óra lejárta után hozzáadtunk 10 µL Cell Proliferation Reagent WST-1 reagenst.
4. A csíklemezt további 30 percet inkubáltuk 37°C-on.
5. Az inkubálást követően a csíklemezt 1 percig rázattuk, 200 fordulat·perc-1 sebességen Thermo Shaker-en.
6. A csíklemez tartalmát 420-480 nm-es hullámhosszon mértük ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay – enzimhez kötött immunszorbens assay) olvasóval.

A vizsgálatot a $CsPbI_3$ és Cs_2SnI_6 esetében következő koncentrációkon végeztük el: 5000; 3000; 2000; 1500; 1000; 750; 500; 250; 125; 62; 31; 15; 7,5; 3,75 és 1,875 µg/mL.

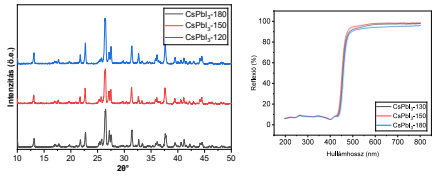


2.ábra: sejtproliferációs kísérlet folyamata

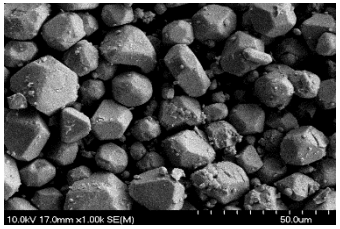
Eredmények



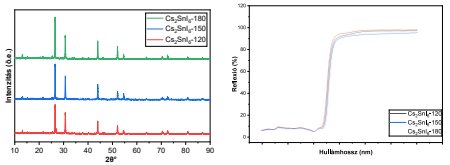
3. ábra: $CsPbI_3$ - 130



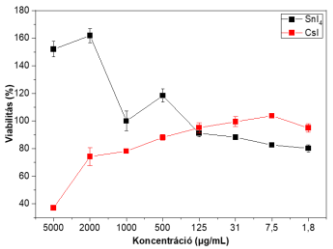
4. ábra: $CsPbI_3$ XRD és DRS felvételei



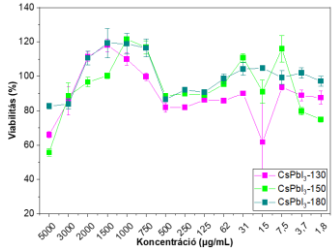
5. ábra: Cs_2SnI_6 – 150



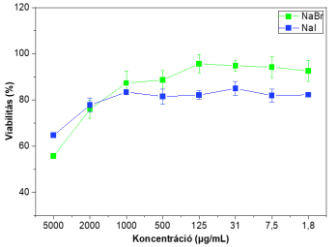
6. ábra: Cs_2SnI_6 XRD és DRS felvételei



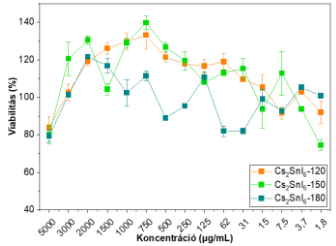
7ábra: SnI_4 és CsI prekurzorok hatása a sejtekre



8 ábra: $CsPbI_3$minták hatása sejtviabilitásra



9. ábra: NaI és NaBr prekurzorok hatása a sejtekre



10. Ábra: Cs_2SnI_6 minták hatása sejtviabilitásra

Következtetések

A perovszkitok citotoxicitása nemcsak összetételüktől, hanem a szintézis körülményeitől is jelentősen függ, különböző hőmérsékleten szintetizált anyagok más-más toxikus hatást mutattak

Az ón használata nem jelent feltétlenül biztonságosabb alternatívát az ólom helyett.

Az alacsony dózis-alacsony kockázat elv nem érvényesül, hiszen a magas és alacsony koncentráción, tehát a végpontokon, toxikusabbak az anyagaink.