

VYUŽITÍ FTALOCYANINOVÝCH PREPARÁTŮ ŠETRNÝCH K PROSTŘEDÍ K OCHRANĚ OKRUHŮ CHLADICÍCH VOD PŘED RŮSTEM ŘAS A SINIC

JANA ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ^a,
EVA BEZDĚKOVÁ^a, PAVLA LOUČKOVÁ^a,
JANA NEKOVÁŘOVÁ^a, MARIE KARÁSKOVÁ^b,
JAN RAKUŠAN^b, JIŘÍ ČERNÝ^b
a RADKA KORÍNKOVÁ^b

^a Ústav technologie vody a prostředí, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b VÚOS, a.s., Rybitví 296, 532 18 Pardubice 20
jana.ambrozova@vscht.cz, eva.bezdekova@vscht.cz,
marie.karaskova@vuos.com, jan.rakusan@vuos.com

Došlo 6.2.06, přijato 29.5.06.

Klíčová slova: ftalocyaninové sloučeniny, průmyslové chladicí vody, sinice a řasy

Úvod

V řadě průmyslových podniků, v jaderných a tepelných elektrárnách je voda využívána jako chladicí voda v cirkulačních chladicích okruzích. Provozovatelé těchto zařízení se často potýkají s růstem mikroorganismů, které rostou v systémech cirkulačních chladicích okruhů, vyskytují se ve formě vláken zelených řas či sinic a způsobují značné problémy v technologických procesech. V místě přístupu světla rostou sinice a řasy, které tvoří modrozeleň či zelené slizké visící provazce nebo chomáče, do kterých se zachytávají další mikroorganismy.

Nárůsty vláknitých řas na chladicích věžích je možno značně omezit vhodně volenými preventivními opatřeními, upravujícími jejich základní životní podmínky. Optimální ošetření systémů lze aplikovat na základě biologického monitoringu, který přihlíží nejen k aktuálnímu stavu lokality, ale počítá i s biologickou prognózou vývoje jakosti vody. Zvýšený výskyt mikroorganismů se řeší aplikací biocidních přípravků, algicidů či jiných kondicionálních preparátů. Před vlastní aplikací výše uvedených přípravků by měly být vytipovány jednotlivé technologické celky, které přicházejí do styku s vodou oživenou mikroorganismy^{1,2}. Před použitím biocidních přípravků je doporučeno jejich otestování ve vodě odebrané přímo z chladicího systému, neboť nesprávně zvolený přípravek může obsahovat aditiva, která vykazují stimulační účinky na mikroorganismy, podporují jejich růst a pomnožování a tím vyvolávají nutnost aplikace dalších biocidních preparátů^{3–5}. Často používané korozní inhibitory na bázi polyfosfátů způsobují eutrofizaci recipientu a znehodnocení vody pro

další uživatele dále po toku^{6,7}. Je proto snaha nahradit tyto látky vhodnějšími preparáty. Kontinuální dávkování nízkých koncentrací biocidů často v okruzích vypěstuje rezistentní kultury mikroorganismů (popř. odchylky od normálních tvarů u některých organismů). V případě chladicích okruhů, kde se používají biocidní preparáty, bylo některými mikroskopickými rozbory zjištěno, že zvýšené dávky biocidů mají možný dopad na morfologické a teratologické útvary u řas⁸.

Uvedené skutečnosti byly důvodem k studiu možnosti uplatnění ekologicky šetrné inhibice růstu řas s použitím ftalocyaninových preparátů.

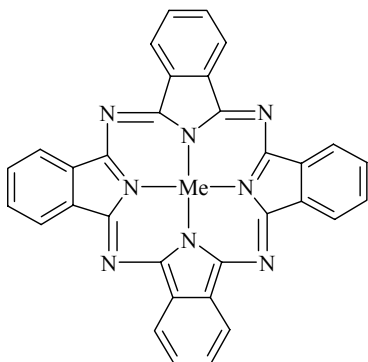
Cíle řešení

V laboratoři na VŠCHT probíhá od roku 2005 řešení projektu FT-TA/034 „*Ekologicky šetrná inhibice množení patogenních bakterií a řas v cirkulačních chladicích systémech jaderných elektráren a jiných podobných technologických zařízeních*“ zaměřené na zjištění účinků ftalocyaninových preparátů. Nositelem projektu je pracoviště VÚOS, a.s. Rybitví, kde jsou příslušné ftalocyaninové sloučeniny syntetizovány. Cílem řešení tohoto projektu je nalezení takových molekulárních struktur ftalocyaninových sloučenin, které jsou schopny generovat interakcí se světlem singletní kyslík, či další jeho reaktivní formy (RSO) a transportovat ho do cílových míst, tj. do molekulárních systémů řas a bakterií, které jsou jeho účinkem likvidovány. Lze předpokládat, že tyto sloučeniny by mohly být alternativním řešením používání baktericidních a algicidních preparátů, které jsou nyní dávkovány do cirkulačních systémů chladicích vod. Vlastním algicidním a baktericidním činidlem je v tomto případě *in situ* vznikající singletní kyslík, který je neškodný pro vodní biocenózu.

Při vlastním řešení projektu byly ftalocyaninové sloučeniny aplikovány na vzorky čistých bakteriálních, sinicových či řasových kultur ke zjištění inhibičního účinku na exponovaném organismu. Inhibiční účinek těchto látek byl dále testován také na vzorcích chladicích vod např. ze systémů elektráren, případně na vzorcích přídavné vody vstupující do cirkulačních okruhů. Cílem prováděných zkoušek bylo nalézt optimální preparát, který splňuje požadovaná kritéria a je dostatečně účinný, ekologicky přijatelný, inertní vůči konstrukčním materiálům chladicích okruhů apod.^{9–13}.

Historie v používání ftalocyaninových preparátů a jejich vlastnosti

Ftalocyanin je tmavě modrý pigment, který byl poprvé objeven v roce 1907 Braunem a Tcherniacem jako vedlejší produkt při preparaci z ftalimidu a acetanhydridu. První, kdo určil strukturu ftalocyaninu byl v roce 1933 Linstead, který nazval pigment ftalocyaninem a popsal strukturu několika kovových komplexů- ftalocyaninů¹⁴. Struktura ftalocyaninu je odvozena od molekuly tetraazaporphyrinu, rozšířeného o čtyři benzenová jádra. Dva vodí-



Obr. 1. Základní struktura ftalocyaninu s kovovým centrálním atomem; substituenty navázány v různých pozicích na benzenových jádrech

kové atomy jsou v centru molekuly nahrazeny v případě kovových ftalocyaninů určitým kovem. Dosud bylo připraveno více jak 70 ftalocyaninů různých kovů. Mezi těmito kovovými ftalocyaniny zaujímá významné postavení ftalocyanin mědi, který je vyráběn ve značných tonážích a je komerčně používán ve formě pigmentů nebo barviv. V poslední době se využití ftalocyaninů přesouvá do dalších aplikačních oblastí, jako je medicína, biologie, chemická katalýza a elektronika. Možnosti aplikace ftalocyaninových derivátů v medicíně a biologii vycházejí zejména z jejich schopnosti generovat při styku s diatomickým kyslíkem a světlem vlnové délky, blízké jejich absorpčnímu maximu, singletový kyslík, a také některé další reaktivní formy kyslíku. Vznik singletního kyslíku a jeho dalších reaktivních forem výše popsaným způsobem je obecně nazýván fotodynamickým procesem^{15–17}.

Termínem singletní kyslík je označována molekula kyslíku v excitovaném stavu, v němž jsou všechny elektrony spárovány, takže multiplicita spinu je 1 (singlet). Dalšími reaktivními formami kyslíku ve výše uvedeném smyslu jsou kyslíkové či hydroxylové radikály. Uvedený fotodynamický efekt nachází široké uplatnění zejména ve fotomedicíně při léčení nádorových onemocnění (fotodynamická terapie). Léčba spočívá v aplikaci senzitizeru, obvykle intravenózní formou, při které dochází k selektivní akumulaci podané látky v nádoru a po ozáření světlem určité vlnové délky, nejlépe blízké absorpčnímu maximu použitého fotosenzitizeru, vzniká přímo v nádoru singletový kyslík případně jeho další reaktivní formy, které způsobují oxidativní destruktci nádoru, aniž je poškožována okolní tkáň. V současné době jsou v klinické praxi používány fotosenzitizery první generace. Od devadesátých let jsou však ve světě intenzivně studovány fotosenzitizery druhé generace, ke kterým patří deriváty ftalocyaninu¹⁸.

Fotosenzitizery 1. generace

Tyto fotosenzitizery mají pro aplikační použití některé nevýhody. Je to zejména neznalost detailní chemické struktury (vícesložkové preparáty) a vedlejší účinek aplikace preparátu, způsobující senzibilizaci pokožky pacienta, který musí být chráněn po řadu dní před denním světlem. Příkladem nejrozšířenějšího fotosenzitizeru 1. generace v klinické praxi je Photofrin® – směs nekovových oligomerních porfyrinů.

Fotosenzitizery 2. generace

Od 90. let jsou předmětem vědeckého zájmu fotosenzitizery 2. generace. Základní charakteristika této skupiny fotosenzitizerů je definována takto: preparátem je chemicky čistá látka cytotoxická za přítomnosti světla, absorpční maximum je v oblasti 650 až 800 nm a fotochemický proces má vysoký kvantový výtěžek. Do skupiny fotosenzitizerů 2. generace patří také preparáty na bázi ftalocyaninů. V současné době je ve fázi klinických testů preparát na bázi ftalocyaninu zinku (firma Ciba-Geigy, Švýcarsko), preparát Photosens na bázi směsi do různého stupně sulfonovaných ftalocyaninů hliníku (NIOPIK Moskva), křemičitý naftalocyanin je testován v Sofii v Bulharsku.

Výzkum v České republice

V České republice, ve Výzkumném ústavu organických syntéz a.s. v Pardubicích, ve spolupráci s Divizí radiofarmak Ústavu jaderného výzkumu v Řeži u Prahy a s Ústavem biofyziky 1. Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze, byly ukončeny preklinické testy preparátu na bázi čistého, disulfonovaného hydroxyhlinitého ftalocyaninu. Kromě léčby nádorových onemocnění nalézá fotodynamický efekt uplatnění při léčbě lupénky, k dezinfekci krve pro transfuze, inaktivaci bakterií a virů, k odstraňování aterosklerotických plátů apod.

Využití fotodynamického efektu v oblasti katalýzy

Vývoj v oblasti fotosenzitizovaných reakcí za použití derivátů ftalocyaninu probíhá též v oblasti chemické katalýzy. Zde se sleduje schopnost singletního kyslíku, či jeho dalších reaktivních forem, vznikajících interakcí ftalocyaninového fotosenzitizeru, diatomického kyslíku a světla, destruovat oxidačním procesem toxické kontaminanty z vody či proudu plynů. V této souvislosti je rovněž studována možnost kombinace anorganického fotosenzitizeru, oxidu titaničitého, s vhodnými deriváty ftalocyaninu. Takto kombinovaný fotosenzitizer nepotřebuje, na rozdíl od čistého oxidu titaničitého, k fotodynamickému procesu ultrafialové světlo a postačí, je-li osvětlován denním světlem.

Vliv světla na různé deriváty ftalocyaninu je studován i ve fyzice a elektronice, s praktickým zaměřením na vývoj tzv. fotovoltaičských článků, použitelných jako zdroj elektrického proudu.

Využití fotodynamického efektu v oblasti biologie

V popředí zájmu je využití tohoto účinku k fotoinaktivaci bakterií, řas a sinic. Jsou studovány účinky různých fotosenzitizátorů na různé mikroorganismy jako např. *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Streptococcus faecalis*^{19–21} a popisovány mechanismy možného působení²². Mezi nejdůležitější faktory ovlivňující mechanismus působení fotosenzitizátoru – ftalocyaninu na buňku mikroorganismu patří stavba a propustnost její buněčné stěny. Citlivější k fotoinaktivaci jsou grampozitivní bakterie, gramnegativní bakterie jsou relativně necitlivé. Necitlivost gramnegativních bakterií k fotoinaktivaci je přisuzována přítomnosti vnější membrány, která znatelně snižuje propustnost pro velké nebo hydrofóbní sloučeniny v porovnání s jinými běžnými biologickými membránami. Tato membrána je tvořena fosfolipidovou vrstvou a lipopolysacharidovou vrstvou.

Jedním z příkladů využití fotobiologických vlastností ftalocyaninů je dezinfekce vody pomocí senzitivizátorů. Tato aplikace je např. předmětem světového patentu²³, ve kterém je uvedeno použití organokřemičitých fotosenzitizátorů (ftalocyaniny a naftalocyaniny křemíku) jako preparátů k dezinfekci vody.

Cíle výzkumu

Ve VÚOS a.s. byla v letech 2001–2003 rámci programu KONZORCIA řešena problematika omezení masového rozvoje sinic pomocí singletního kyslíku. Výzkum zahrnoval laboratorní experimenty s vybranými senzitivizátory a modelové a terénní zkoušky, ověřující bezprostřední vliv vybraného fotosenzitizátoru jednak na sinice a jednak na další složky vodních systémů. Na výsledky výzkumných prací bylo navázáno při řešení stávajícího programu „*Ekologicky šetrná inhibice množení patogenních bakterií a řas v cirkulačních chladicích systémech jaderných elektráren a jiných podobných technologických zařízeních*“ v rámci programu TANDEM. V této práci jsou uvedeny výsledky laboratorního testování účinnosti senzitivizátorů na bázi různých ftalocyaninových sloučenin vůči vybraným typům mikroorganismů.

Experimentální část*Testované sloučeniny*

Testování probíhalo celkem v 5 sériích, k testování bylo použito celkem 11 skupin ftalocyaninových sloučenin, jejich bližší specifikace a zařazení dle chemického složení, je uvedeno v tab. I. V rámci testovaných skupin látek bylo otestováno celkem 40 preparátů.

Výběr mikroorganismů

Na základě znalosti problematiky biologického oživení v chladicích systémech byly navrženy testované typy sinic a řas^{24,25}. Ze sbírky organismů BÚ AVČR Třeboň byly vybráni zástupci chlorokokálních zelených řas

Tabulka I

Skupiny testovaných ftalocyaninů dle typu chemického složení

Skupina látek	Typ skupiny
I	sulfonované hydroxyhlinité ftalocyaniny anionoidního typu
II	hydroxyhlinité ftalocyaniny substituované heterocyklem kationoidního typu
III	sulfamidické hydroxyhlinité ftalocyaniny
IV	hydroxyhlinité karboxyftalocyaniny anionoidního typu
V	sulfamidické hydroxyhlinité ftalocyaniny kationoidního typu
VI	zinečnaté ftalocyaniny anionoidního typu
VII	sulfonované hydroxyhlinité ftalocyaniny kationoidního typu
VIII	ftalocyaniny zinku substituované heterocyklem kationoidního typu
IX	sulfamidické ftalocyaniny zinku
X	sulfamidické zinečnaté ftalocyaniny kationoidního typu
XI	ostatní kationické ftalocyaniny

a vláknitých zelených řas a sinic (*Scenedesmus quadricauda* kmen Greifswald 15, *Chlorella vulgaris* BEIJ. kmen BEIJERINCK/Camb. 211-11b, *Raphidocelis subcapitata* kmen SKULBERG 1959/1, *Koliella spiculiformis* kmen VISCH. VISCHER 1940/208; *Stigeoclonium* sp. kmen GARDAVSKY 1985/13; *Anabaena* sp. kmen TAKÁČOVÁ 1984/1). V případě bakterií byly vybrány na základě znalostí o propustnosti buněčných stěn typy grampozitivních (G⁺) a gramnegativních (G⁻) bakterií (G⁺: *Enterococcus faecalis* CCM 4224; G⁻: *Escherichia coli* CCM 3954, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955). Tyto kultury bakterií byly získány ze sbírky CCM Masarykovy Univerzity v Brně v podobě tzv. želatinových disků, z nichž se bakterie před testem oživovaly.

Metodika testování

Metodika testování umožňuje použít pouze takové zástupce ftalocyaninových sloučenin, které jsou ve vodě rozpustné. Při přípravě zásobních roztoků testovaných ftalocyaninů byla zvolena hodnota pH roztoku v rozmezí hodnot 10–11, při které jsou příslušné ftalocyaniny převážně na sodné soli ve vodě rozpustné.

Postup testu na bakteriích

U bakterií se vycházelo při testování inhibice ze znalosti charakteru růstové křivky v laboratorních podmínkách. Byly použity kultivační metody dle platných ČSN norem pro mikrobiologická stanovení jednotlivých indi-

kačních organismů. Pro vlastní testy byly kultivační metody upraveny tak, aby bylo možné zjišťovat v průběhu testu inhibice růstu bakteriálních kolonií. Metodika spočívala v těchto krocích: 1. sterilizace laboratorních prostor a pomůcek; 2. příprava pracovních roztoků; 3. příprava bakteriální suspenze z CCM disku; 4. inokulace testovaných vzorků; 5. inkubace testovaných vzorků; 6. zjištění počtu bakterií v testovaných koncentracích; 7. zjištění inhibice testované látky^{11,13}.

V případě testu na bakteriích *Escherichia coli* byly použity koncentrace ftalocyaninu: 5; 4; 3; 2; 1; 0,5; 0,3 a 0,1 mg l⁻¹, doba expozice byla: 2; 5; 7; 9 a 25 h. V případě testu na bakteriích *Enterococcus faecalis* byly použity koncentrace ftalocyaninu: 5; 4; 3; 2; 1; 0,5; 0,3 a 0,1 mg l⁻¹, doba expozice byla: 15; 30; 45; 60 a 75 min. V případě testu na bakteriích *Pseudomonas aeruginosa* byly použity koncentrace ftalocyaninu: 5; 4; 3; 2; 1; 0,5; 0,3 a 0,1 mg l⁻¹, doba expozice byla: 0,5; 1; 1,5; 2,5; 4 a 5,5 h.

Postup testu na řasách či sinicích

Byl použit postup akutního testu toxicity na řasách dle ČSN EN ISO 28692. Princip metody spočívá ve stanovení toxického účinku látky na inhibici růstu a rozmnožování sinic a řas v jednotlivých koncentracích sledované látky ve srovnání s kontrolami v čistém živném roztoku. Metoda byla rozšířena o fluorescenční analýzu vhodnou ke zjištění vitality organismů. Při testu se zaznamenávaly i odchylky od normálního tvaru buněk. Údaje o počtu buněk (popř. cenobii) byly doplňovány i o údaje koncentrace chlorofylu-a.

Test má tyto stupně:

1. sterilizace laboratorních prostor a pomůcek,
2. příprava pracovních roztoků,
3. příprava řasové suspenze z kultury,
4. inokulace testovaných vzorků,
5. inkubace testovaných vzorků,
6. zjištění počtu řas v testovaných koncentracích,
7. zjištění inhibice testované látky,
8. zjištění inhibice koncentrace chlorofylu-a v testované látce^{10,12}.

Byly použity koncentrace ftalocyaninu: 10; 8; 5; 4; 3; 2; 1; 0,5; a 0,1 mg l⁻¹, doba expozice byla celkově 72 h, odečty řas byly prováděny každých 24 h, stanovení koncentrace chlorofylu-a bylo prováděno v intervalech 0 h a 72 h.

Výsledky a diskuse

Ekotoxikologická praxe doporučuje zjišťovat tyto hodnoty:

- IC₅₀ inhibiční koncentrace, při které je 50 % z nasazených organismů inhibováno,
- TU toxikologická jednotka, udávaná jako poměr čísla 100 a zjištěné hodnoty IC₅₀, tato hodnota se používá v případě zařazování látek z hlediska

jejich vyluhovatelnosti),

- LOEC (*lowest observed effect concentration*) – nejnižší koncentrace testovaného vzorku, při které jsou pozorovány účinky,
- NOEC (*no-observed effect concentration*), nejvyšší koncentrace testovaného vzorku nevyvolávající žádné pozorovatelné účinky.

Vedle stanovení hodnot IC₅₀, které mají výpovědní hodnotu pro ekotoxikologa, byly vyhodnoceny účinky ftalocyaninů také pomocí inhibice růstu buněk, inhibice objemové biomasy či inhibice koncentrace chlorofylu-a v případě testu na řasách a sinicích. Stanovení koncentrace chlorofylu-a má vysokou vypovídací hodnotu, protože informuje nejen o objemové biomase, ale současně i o životaschopnosti fototrofních organismů (sinic a řas). Pro hodnocení a porovnání účinnosti jednotlivých vzorků ftalocyaninů byly stanoveny orientační kvantitativní parametry, kterými byly klasifikovány jednotlivé testované vzorky.

Skupina látek I

Z této skupiny ftalocyaninů bylo otestováno celkem 5 preparátů. Skupina ftalocyaninů vykazovala v testech na bakteriích vysokou účinnost. Na bakterii *Enterococcus faecalis* byl přípravek účinný již v koncentraci 0,1 mg l⁻¹ a na ostatní bakterie (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) již v koncentraci 1 mg l⁻¹. Na 100% inhibici *Escherichia coli* je třeba delší doby působení (v testu byla doba expozice 25,25 h). Během této doby jsou inhibovány ze 100 % i ostatní bakterie, protože na 100% inhibici *Enterococcus faecalis* je třeba 1,25 h expozice a na inhibici *Pseudomonas aeruginosa* je třeba 5,5 hod. Ftalocyaniny mají i vysoké algicidní účinky. Inhibice růstu buněk řas, biomasy řas a koncentrace chlorofylu-a byly na všech testovacích organismech 100%. V případě aplikací těchto přípravků, jako algicidních preparátů, je pro inhibici řas nutné zvolit vyšší dávky, např. 10 mg l⁻¹, s ohledem na růst biomasy řas.

Skupina látek II

Z této skupiny ftalocyaninů bylo otestováno celkem 5 preparátů. Skupina ftalocyaninů patří mezi vysoce účinné baktericidní i algicidní přípravky. Průběh testu na *Escherichia coli* naznačoval již po 2 h expozice 100% inhibici růstu bakterií u téměř všech nasazených koncentrací. Již po 7 h expozice je ve všech nasazených koncentracích 100% inhibice růstu. V případě testu na *Enterococcus faecalis* se 100% inhibice začínala projevovat po 30 min expozice u koncentrace 4 mg l⁻¹. Znatelnější snížení počtu kolonií je po 45 min expozice, kdy 100% inhibice byla naměřena u koncentrací v rozsahu 5–1 mg l⁻¹. Až na drobné odchylky (97 a 98 %) byla inhibice u všech testovaných koncentrací po 75 min expozice 100%. V případě vyhodnocení testu na *Scenedesmus quadricauda* na základě růstové rychlosti byla zjištěna téměř 93–81% inhibice

růstu u koncentrace 10–0,5 mg l⁻¹. Tyto výsledky byly potvrzeny i v případě stanovení koncentrace chlorofylu-a, kdy 100% inhibice je v koncentracích 10–1 mg l⁻¹. Buňky již po 24 h v koncentracích 0,5, 1, 3, 5, 8 a 10 mg l⁻¹ byly ve velmi špatném fyziologickém stavu. V případě vyhodnocení testu na *Chlorella vulgaris* na základě koncentrace chlorofylu-a byla zjištěna 100% inhibice u koncentrací 10 až 3 mg l⁻¹. U některých ftalocyaninů byla zjištěna zhoršená rozpustnost ve vodných roztocích. Tato skutečnost se neprojevila na snížení účinku ftalocyaninu.

Skupina látek III

Z této skupiny ftalocyaninů bylo otestováno celkem 5 preparátů. V této skupině se vyskytují ftalocyaniny, které mají spíše stimulační účinky a nejsou vhodnými přípravky, které by bylo možné ve vodných roztocích používat k potlačení růstu bakterií a řas. Pro inhibici růstu bakterií *Escherichia coli* je potřeba zvolit vyšší dávky a delší doby expozic, než byly použity v testu. Po 25 h expozice je u koncentrací 5 a 4 mg l⁻¹ zaznamenána v průměru 75% inhibice růstu. Z průběhu testu lze usuzovat na možnost přežívání bakterií (stresované organismy), které si zachovávají vitalitu a množí se. Doporučením je volit vyšší koncentrace, než je např. 10 mg l⁻¹, aby nedocházelo k nařezování a možnému stimulačnímu účinku na mikroorganismy. V případě testu na chlorokokální řase *Scenedesmus quadricauda* se projevují stimulační účinky. Inhibice jsou zanedbatelné. Výsledky byly potvrzeny i v případě stanovení koncentrace chlorofylu-a. Stejně výsledky potvrzeny i v případě testu na *Raphidocelis subcapitata*. U testu na *Raphidocelis subcapitata* se projevují stimulační účinky, vyšší inhibice je dosaženo na konci testu u koncentrace 10 mg l⁻¹ (37 %). FTC spadá mezi méně účinné až neúčinné přípravky.

Skupina látek IV

Z této skupiny byl otestován ftalocyaninový preparát, který se v testovaných koncentracích zdá být neúčinným baktericidním i algicidním přípravkem. Nižší dávky působí stimulačně na testované typy organismů. Doporučením je volit vyšší koncentrace, než je např. 10 mg l⁻¹, aby nedocházelo k nařezování a možnému stimulačnímu účinku na mikroorganismy. Dalším doporučením je spíše tento typ přípravku používat na jiné účely, než je ošetřování chladicích systémů.

Skupina látek V

Z této skupiny ftalocyaninů byly otestovány celkem 3 preparáty. Obecně se zde vyskytují ftalocyaniny, u kterých se zpočátku testování projevují stimulační účinky. Pro inhibici růstu bakterií *Escherichia coli* je potřeba zvolit vyšší dávky a delší doby expozic, než byly použity v testu. Inhibiční účinky se začínají projevovat po 25 h expozice velmi sporadicky, při koncentraci 4 mg l⁻¹, kdy

je zaznamenána 56% inhibice růstu. V případě testu na chlorokokální řase *Scenedesmus quadricauda* se projevují stimulační účinky, tyto výsledky byly potvrzeny i v případě stanovení koncentrace chlorofylu-a. V případě testů na řasy *Koliella spiculiformis* a *Raphidocelis subcapitata* byla u koncentrací 10–3 mg l⁻¹ zjištěna téměř 100% inhibice růstu řas, která byla potvrzena stanovením koncentrace chlorofylu-a.

Skupina látek VI

Z této skupiny byl otestován ftalocyaninový preparát, který se zdá být neúčinným baktericidním i algicidním přípravkem v testovaných koncentracích. Vyšší i nižší koncentrace působily stimulačně na testované typy organismů. Doporučením je volit vyšší koncentrace, než je např. 10 mg l⁻¹, aby nedocházelo k nařezování a možnému stimulačnímu účinku na mikroorganismy. Doporučením je spíše tento typ přípravku používat na jiné účely, než je ošetřování chladicích systémů.

Skupina látek VII

Z této skupiny ftalocyaninů bylo otestováno celkem 5 preparátů. O skupině ftalocyaninů se dá říci, že jsou účinnými baktericidními i algicidními přípravky. Nejúčinněji působily na všechny testované bakterie, zjm. pak na *Pseudomonas aeruginosa*, kdy k 100% inhibici docházelo do 2 h expozice v koncentračním rozpětí 5–0,1 mg l⁻¹. V případě testu na *Enterococcus faecalis* byla 100% inhibice zjišťována již po 45 min expozice u koncentrací 1–2 mg l⁻¹ a po 1 h expozice je ve všech testovaných koncentracích téměř 100% inhibice. Na inhibici *Escherichia coli* je třeba delší doba působení (zde 25 h) než na ostatní bakterie. V případě testu na řase *Scenedesmus quadricauda* byla zjištěna vysoká účinnost v koncentracích 10–0,5 mg l⁻¹, kdy bylo dosahováno 100% inhibice růstu řas. Naopak koncentrace 0,1 mg l⁻¹ vykazovaly nízké inhibiční účinky. V případě testu na *Koliella spiculiformis* je FTC účinný v nižších koncentracích, tj. od 5 mg l⁻¹ a méně, koncentrace 8 a 10 mg l⁻¹ mají stimulační účinky. V případě testu na *Chlorella vulgaris* se projevuje inhibice 72 % v koncentraci 5 mg l⁻¹, u koncentrace 10 mg l⁻¹ je inhibice 36 %. U *Raphidocelis subcapitata* je v koncentraci 10 mg l⁻¹ inhibice 61 %, inhibiční účinky, i když nízké, jsou zaznamenány ve všech testovaných koncentracích.

Skupina látek VIII

V této skupině testovaných ftalocyaninů (bylo jich otestováno celkem 5) se vyskytují preparáty, které mají vysoký inhibiční účinek, střední inhibiční účinek a stimulační účinek. Jedná se o různou skladbu testovaných preparátů. U těchto ftalocyaninů se při testech nezdálo být koncentrace podstatným parametrem ovlivňujícím průběh testu. Tyto ftalocyaniny mají postupnou tendenci inhibice růstu, zjm. bakteriálních buněk. V případě přípravku

s vysokým inhibičním účinkem v testu na bakteriích dochází postupnou expozicí k 100% inhibici růstu bakterií v dalších koncentracích, zde v 5 mg l⁻¹ a ve 3 mg l⁻¹. U koncentrací 0,5; 0,3 a 0,1 mg l⁻¹ se inhibice projevuje daleko pomaleji, dokonce po 2 h expozice byla zaznamenána mírná stimulace v porovnání s kontrolním vzorkem. V případě testu na *Enterococcus faecalis* se téměř 100% inhibice projevila již po 30 min expozice u koncentrací 4 a 1 mg l⁻¹. Po 45 a 60 min expozice jsou již 100% inhibice růstu zjištěny v rozsahu nasazených koncentrací 5–1 mg l⁻¹. Pomalejší nástup inhibice růstu bakterií se projevoval u koncentrace 0,1 mg l⁻¹ (kde byla zpočátku naměřena mírná stimulace). V případě testu na řasách *Scenedesmus quadricauda* byla zjištěna téměř 100% inhibice růstu. Koncentrace 0,5 a 0,1 mg l⁻¹ vykazovaly nízké inhibiční účinky. V případě vyhodnocení testu u *Koliella spiculiformis* na základě růstové rychlosti byla zjištěna téměř 100–90% inhibice růstu u koncentrací 10–0,1 mg l⁻¹, tyto výsledky potvrzuje i inhibice biomasy. A následně i vyhodnocení koncentrace chlorofylu-a, které bylo ve všech případech 100 % inhibice. V případě testu na *Chlorella vulgaris* byla po 72 h expozice zjištěna u koncentrací v rozsahu 10–3 mg l⁻¹ 100% inhibice koncentrace chlorofylu-a. U koncentrací v rozsahu 0,1–1 mg l⁻¹ byla inhibice 63–88 %.

V případě přípravku se středním inhibičním účinkem byly v testu na *Escherichia coli* zpočátku testu i ve vyšších koncentracích zaznamenávány spíše stimulační účinky. Znatelné inhibice je zaznamenáno po 9,5 h expozice. Po 25 h expozice je koncentrace ve všech nasazených koncentracích v rozmezí 95–98 %. 100% inhibice nebyla zaznamenána, bude potřeba delší doby expozice. V případě vyhodnocení testu na *Scenedesmus quadricauda*, byla zjištěna téměř maximální inhibice růstu 15 %, a to v koncentraci 3 mg l⁻¹. V případě vyhodnocení testu na základě inhibice biomasy byla zaznamenána 21% inhibice v případě koncentrace 10 mg l⁻¹, což potvrdilo i stanovení koncentrace chlorofylu-a, která byla v porovnání s kontrolou 18% inhibována v koncentraci 10 mg l⁻¹. Účinky ftalocyaninu se dají vysvětlit tím, že se slabě rozpustil, čímž se jednalo prakticky o čirý roztok, u kterého spíše převládaly komponenty živného média a inhibice byla zanedbatelná.

V případě přípravku se stimulačním účinkem byly v testu na *Escherichia coli* zpočátku zaznamenány stimulační účinky, které i ve vyšších koncentracích přetrvávají do 9,5 h expozice i u koncentrace 5 mg l⁻¹. Stimulace byla zjišťována i po 25 h expozice u koncentrací 0,3 a 0,1 mg l⁻¹. V koncentraci 5 mg l⁻¹ je zaznamenána nejvyšší inhibice, a to 67 %. V případě testu na *Scenedesmus quadricauda* byla zaznamenána stimulace, zjištěná na základě růstové rychlosti, biomasy a koncentrace chlorofylu-a. Tento fakt lze vysvětlit tím, že se ftalocyanin slabě rozpustil, jednalo se prakticky o čirý roztok, u kterého spíše převládaly komponenty živného média. Ftalocyanin vykazoval nízký baktericidní účinek, bude potřeba zřejmě aplikovat větší dávky. Na testovaných řasách se projevoval spíše stimulačně. Na základě tohoto testu ale nelze vyloučit i fakt, že by byl ftalocyanin používán jiným způsobem.

Skupina látek IX

Z této skupiny ftalocyaninů byly otestovány celkem 4 preparáty. O celé testované skupině lze říci, že má velmi nízké inhibiční účinky. Testované ftalocyaniny se projevovaly mírnými stimulačními účinky. Ftalocyaniny v případě bakterií *Escherichia coli* naznačují spíše stimulační a velmi nízké inhibiční účinky, které jsou zaznamenávány i po 9,5 h expozice ve všech nasazených koncentracích. Po 25 h expozice byla u koncentrace 5 a 3 mg l⁻¹ zjištěna stimulace růstu bakterií v porovnání s kontrolou. Inhibic je dosahováno u ostatních nasazených koncentrací, z nich nejvyšší, zde 69 %, byla zjištěna u koncentrací 0,3 a 0,1 mg l⁻¹. V testu nebyla zaznamenána 100% inhibice. Zpočátku testu na *Enterococcus faecalis* se projevují stimulační účinky, které v nižších koncentracích přetrvávají i po 45 min expozice. Po 75 min expozice byla v rozsahu nasazených koncentrací zaznamenána 46–96 (výjimečně) % inhibice. Častěji byla zaznamenána 40–60% inhibice. V případě vyhodnocení testu u *Scenedesmus quadricauda* na základě růstové rychlosti, byla zjištěna nejvyšší inhibice 14 % u koncentrace 8 mg l⁻¹, což potvrzuje i stanovení inhibice biomasy, která byla 31%. V případě stanovení koncentrace chlorofylu-a byly zjišťovány spíše stimulace.

Skupina látek X

Z této skupiny ftalocyaninů byly otestovány celkem 2 preparáty. O celé testované skupině lze říci, že má nízké inhibiční účinky. V případě testu na *Escherichia coli* naznačovaly výsledky testů spíše stimulační a velmi nízké inhibiční účinky, které byly zaznamenávány i po 9,5 h expozice v téměř všech nasazených koncentracích. V testech nebyla zaznamenána 100% inhibice. V případě testu na *Enterococcus faecalis* byla po 30 min expozice v rozsahu koncentrací 3–5 mg l⁻¹ zjištěna 100% inhibice růstu. Po 75 min expozice byla již 100% inhibice růstu v rozsahu koncentrací 5–0,5 mg l⁻¹. U koncentrací 0,3 a 0,1 mg l⁻¹ byla inhibice růstu 98 % a 85 %. Na základě těchto výsledků lze říci, že ftalocyaniny jsou vysoce účinné baktericidní přípravky na grampozitivní bakterie, u gramnegativních bakterií se zdají být již méně účinnými. V případě vyhodnocení testu u *Scenedesmus quadricauda* na základě růstové rychlosti, byla zjištěna nejvyšší inhibice 24 % u koncentrace 8 mg l⁻¹, což potvrzuje i stanovení inhibice biomasy, která byla 54 %. V případě stanovení koncentrace chlorofylu-a byly zjišťovány spíše stimulace.

Skupina látek XI

Z této skupiny byly testovány ftalocyaniny (celkem byly otestovány 4 preparáty), u kterých se spíše projevovala zpočátku testu mírná stimulace růstu bakterií. Stejně tomu tak bylo i v případě testů na řasách. Patrné inhibice se začaly projevovat v případě testu na *Escherichia coli* po 5 h expozice. Stejně tak i průběh testu na *Enterococcus faecalis* naznačuje zpočátku spíše mírně stimulační účinn-

ky. Patrná inhibice byla zaznamenána po 60 min expozice (91–99%), po 75 min expozice byla inhibice růstu 100% ve vyšších koncentracích, u nižších koncentracích se projevovaly pomalé inhibiční účinky (dokonce i mírná stimulace). V případě testu na *Scenedesmus quadricauda* byla zjištěna 97% inhibice růstu u koncentrace 10 mg l⁻¹. Koncentrace 3; 1; 0,5 a 0,1 prokazovaly velmi nízké procento inhibice, což potvrzuje i výsledky inhibice biomasy a koncentrace chlorofylu-a. V případě vyhodnocení testu u *Koliella spiculiformis* na základě růstové rychlosti byla zjištěna téměř 88–96% inhibice růstu u koncentrací 10–3 mg l⁻¹, tyto výsledky potvrzuje i inhibice biomasy. V případě vyhodnocení koncentrace chlorofylu-a byla zjištěna 100% inhibice u téměř více než poloviny nasazených koncentrací. V případě testu na *Chlorella vulgaris* byla u koncentrací v rozsahu 10–1 mg l⁻¹ po 72 h expozice zjištěna 100% inhibice koncentrace chlorofylu-a. U koncentrace 0,1 mg l⁻¹ byla zjištěna 48% inhibice a u koncentrace 0,5 mg l⁻¹ 93% inhibice. Ftalocyaniny mají vysoké inhibiční účinky na řasách v případě vyšších koncentrací přípravku.

Závěr

Na základě provedeného testování lze vyhodnotit účinek syntetizovaných ftalocyaninových preparátů na vybrané zástupce mikroorganismů. Z uvedeného souboru vzorků lze jednoznačně konstatovat, že baktericidní i algicidní účinky vykazovaly preparáty na bázi ftalocyaninu zinku a hliníku kationoidního typu a to zejména ty, které byly substituovány heterocyklem kationoidního typu. Ftalocyaniny anionoidního typu – sulfonované ftalocyaniny hliníku vykazovaly zejména vysokou baktericidní účinnost.

Tyto výsledky bude nutné následně ověřit na souboru mikroorganismů z reálného prostředí (na vzorcích vody z vybraných lokalit) a na základě výsledků stanovení účinnosti a zhodnocení ekotoxikologických dat. V neposlední řadě je třeba brát v úvahu i technologickou schůdnost výroby jednotlivých ftalocyaninů.

Vypracováno v rámci výzkumného projektu MPO FT-TA/034 „Ekologicky šetrná inhibice množení patogenických bakterií a řas v cirkulačních chladicích systémech jaderných elektráren a jiných podobných technologických zařízeních“.

LITERATURA

1. Ambrožová J., Horčíčková L., Matulová T.: *Konference „Chemie energetických oběhů V.“ (5th International Power Cycle Chemistry Conference by IAPWS), Praha 1.–3.9.2004.* Sborník, str. 19.
2. Ambrožová J., Horčíčková L., Matulová T.: *Vodní hospodářství* 55, 28 (2005).
3. Ambrožová J.: *Konference „Chemie energetických oběhů IV.“ (4th International Power Cycle Chemistry Conference by IAPWS), Praha 3.–5.9.2002.* Sborník, str. 111.
4. Ambrožová J.: *Ekotoxikologická problematika ošetřených chladicích vod.* Příručka pro pracovníkov v technologických laboratoriách Atómovej elektrárne o.z. Mochovce, arch. č. 22022, seminář Hydrotechnológia, s.r.o. Bratislava, 2002, str. 28.
5. Horčíčková L.: *Diplomová práce.* VŠCHT Praha, 2004.
6. Sládečková A., Ambrožová J.: *Konference „Chemie energetických oběhů II.“, Praha 1.–3.9.1998.* Sborník, str. 165.
7. Ambrožová J., Macák J.: *Konference „Chemie energetických oběhů III.“ (3rd International Power Cycle Chemistry Conference by IAPWS), Praha 6.–8.9.2000.* Sborník, str. 205.
8. Ambrožová J., Matulová T.: *Biologické audity chladicích vod (Základy hydrobiologie, koncepce auditů, možné výstupy a řešení technických problémů).* Bulletin Energochemie, č. 23, 2005, CD-rom.
9. Ambrožová J., Bezděková E., Loučková P., Nekovářová J., Karásková M., Rakušan J., Černý J., Kořínková R.: *Konference „Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí“, Vodňany, 29.–31.8.2005.* Sborník, str. 5.
10. Ambrožová J., Matulová T., Nekovářová J.: *Konference „Vodárenská biologie 2005“, Praha 2.–3.2.2005 (Ambrožová J., Tlustá, P., ed.).* Sborník, str. 78.
11. Bezděková E., Ambrožová J., Loučková P., Nekovářová J., Karásková M., Rakušan J., Černý J., Kořínková R.: *Konference „Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí“, Vodňany, 29.–31.8.2005.* Sborník, str. 12.
12. Loučková P., Ambrožová J., Bezděková E., Nekovářová J., Karásková M., Rakušan J., Černý J., Kořínková R.: *Konference „Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí“, Vodňany, 29.–31.8.2005.* Sborník, str. 58.
13. Nekovářová J., Ambrožová J., Bezděková E., Loučková P., Karásková M., Rakušan J., Černý J., Kořínková R.: *Konference „Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí“, Vodňany, 29.–31.8.2005.* Sborník, str. 88.
14. Minnock A., Vernon D. I., Schofield J., Griffiths J., Parish J. H., Brown S. B.: *Antimicrob. Agents Chemother.* 44, 522 (2000).
15. Gábor F., Szocs K., Maillard P., Czík G.: *Radiat. Environ. Biophys.* 40, 145 (2001).
16. Merchat M., Bertolini G., Giacomino P., Villanueva A., Jori G.: *J. Photochem. Photobiol., B* 32, 153 (1996).
17. Minnock A., Vernon D. I., Schofield J., Griffiths J., Parish J. H., Brown S. B.: *J. Photochem. Photobiol., B* 32, 159 (1996).

18. Leznoff C. C., Lever A. B. P. (ed.): *Phthalocyanines. Properties and Applications. 1. Phthalocyanines*. VCH Publishers, 1989.
19. Bertolini G.: *Microbios* 71, 33 (1999).
20. Bertolini G.: *Laser Life Sci.* 5, 267 (1993).
21. Malik K: *J. Photochem. Photobiol., B* 14, 262 (1992).
22. Minnock A.: *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000, 522.
23. Willey A. D. (Procter & Gamble): WO 97/05203 (C09B 47/04).
24. Ambrožová J.: *Hydrobiologický audit systému chladičích vod*. Zpráva I. pro ETE, na základě objednávky č. TE/00009233 ze dne 13. 2. 2003.
25. Ambrožová J.: *Hydrobiologický audit systému chladičích vod*. Zpráva II. pro ETE, na základě objednávky č. TE/00011406 ze dne 11. 11. 2003.

J. Říhová Ambrožová^a, E. Bezděková^a, P. Loučková^a, J. Nekovářová^a, M. Karásková^b, J. Rakušan^b, J. Černý^b, and R. Kořínková^b (^a *Department of Water Technology and Environmental Engineering, Institute of Chemical Technology, Prague,* ^b *VÚOS Co., Rybitví, Pardubice*): **Utilization of Environment-Friendly Phthalocyanine Preparations for Algae and Cyanobacteria Control in Cooling Water Circuits**

The aim of this work is to find an environmental-friendly process for elimination of cyanobacteria and algae in circulating cooling waters and inhibition of their growth. The process should replace the commonly used chemical agents which require frequent dosing or large doses of the agents. A proper substitution for chemicals is singlet oxygen, which is produced by interaction of light and a functional dye dissolved in circulating water.

Výzkumný pracovník v oblasti nanobiotechnologií

Děkanát PřF UJEP v Ústí nad Labem vyhlašuje výběrové řízení pro obsazení pozice výzkumného pracovníka Katedry biologie na období 5-ti let v rámci projektu v oblasti nanobiotechnologie s možností získání trvalého pracovního úvazku v dalších letech. Vhodný kandidát je čerstvý absolvent doktorského studia, popř. doktorand těsně před dokončením studia biochemického, chemického popř. molekulárně-biologického zaměření. Vítaná je osobní zkušenost zejména v následujících oblastech (není podmínkou): využití metodik SPM v oblasti nanobiotechnologie a biologie, elektrochemické biosenzory a imunosenzory, syntéza a aplikace nanočástic v biologii, kontrolovaná biofunktionalizace povrchů. Písemné nabídky s příloženým odborným životopisem a kopií dokladu o dosaženém vzdělání zasílejte na adresu: Děkanát, Přírodovědecká fakulta UJEP, České mládeže 8, 400 96 Ústí nad Labem. Bližší informace na tel: + 420 475 283 376 (Dr. Malý) popř. malyj@sci.ujep.cz