

## Open Schools Journal for Open Science

Vol. 3, 2020



### Gold and Silver - but safe?

Parak N.	BG/BRG Lerchenfeld
Lippusch M.	BG/BRG Lerchenfeld
Naylor C.	BG/BRG Lerchenfeld
Steyskall A.	BG/BRG Lerchenfeld
Joubert Isabella A.	Dept. Biosciences, University of Salzburg
Himly Martin	Dept. Biosciences, University of Salzburg
Geppert Mark	Dept. Biosciences, University of Salzburg

<https://doi.org/10.12681/osj.22597>

Copyright © 2020 N. Parak, M. Lippusch, C. Naylor, A. Steyskall, Isabella A. Joubert, Martin Himly, Mark Geppert



### To cite this article:

Parak, N., Lippusch, M., Naylor, C., Steyskall, A., Joubert, I. A., Himly, M., & Geppert, M. (2020). Gold and Silver - but safe?. *Open Schools Journal for Open Science*, 3(2). doi:<https://doi.org/10.12681/osj.22597>

# Gold and Silver – but safe?

N. Parak<sup>1</sup>, M. Lippusch<sup>1</sup>, C. Naylor<sup>1</sup>, A. Steyskall<sup>1</sup>, Isabella A. Joubert<sup>2</sup>, Martin Himly<sup>2</sup>, and Mark Geppert<sup>2</sup>

<sup>1</sup>BG/BRG Lerchenfeld, Klagenfurt, Austria

<sup>2</sup>Dept. Biosciences, University of Salzburg, Austria

Abstract of poster presented orally in the moderated poster session at the International Open NanoScience Congress, 26.2.2019, Salzburg ([www.uni-salzburg.at/ONSC](http://www.uni-salzburg.at/ONSC))

Gold (Au) and silver (Ag) nanoparticles (NPs) are frequently used in medicine (drug delivery, wound dressings) but also more and more incorporated in every-day life products, such as functional clothing. Therefore, a comprehensive safety assessment of such particles is essential. The aim of this work was the investigation of the suitability of standard DIN-EN-ISO protocols for cytotoxicity assessment of NPs. To achieve this, the cytotoxicity profiles of Au and Ag NPs on human lung cells were investigated by applying two different standard protocols: (1) the MTT assay, which addresses the cells' metabolic activity, and (2) the Neutral Red Uptake (NRU) assay, which assesses the cells' lysosomal integrity. Both assays are performed according to standard (DIN-EN-ISO) guidelines as required by the current European guideline termed Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals (REACH).

The results revealed different cytotoxicity profiles for Au and Ag NPs: While Au NPs only showed slight toxic effects when applied in high concentrations (25% viability loss at 200 µg/mL Au NPs), Ag NPs were much more harmful leading to 25% cell viability loss at only 50 µg/mL and 93% viability loss at 100 µg/mL Ag NPs. Both assays revealed comparable results. Cell death was confirmed by microscopic inspection: Dead cells formed visible agglomerates under the microscope.

In summary, the results demonstrated the suitability for using standard DIN-EN-ISO cytotoxicity tests when testing NPs. While Au NPs can be considered as safe in the used concentrations and setting, Ag NPs lead to loss of cellular metabolic activity and lysosomal integrity when applied in concentrations greater than 50 µg/mL to human lung cells.

## Keywords

Silver nanoparticle; Gold nanoparticle; MTT test; NRU assay; REACH

## Acknowledgment

This work was supported by the Sparkling Science project Nan-O-Style (SPA 06/270) of the Austrian Ministry of Education, Science and Research (BMBWF).

# Gold und Silber – aber sicher!?

## Zytotoxizität von Gold- und Silbernanopartikeln

Nick Parak, BRG Lerchenfeld, Klagenfurt

In den letzten Jahren werden Gold- und Silbernanopartikel aufgrund ihrer Eigenschaften immer häufiger als Zusatzstoffe in diversen Alltagsprodukten eingesetzt. So werden Silbernanopartikel aufgrund ihrer antibakteriellen Wirkung z.B. in Wundauflagen und Kosmetik eingesetzt oder auch in Farbsprays. Goldnanopartikel werden vielen technischen Hilfsmitteln zugesetzt, so kommen sie in Touch-Displays vor oder werden in Schwangerschaftstests verwendet, um durch Reaktion mit Schwangerschaftshormonen einen Farbwechsel auszulösen.

**Problem:** Die verwendeten Gold- und Silbernanopartikel können auf diverse Wege in unser Respirationssystem gelangen. Um dadurch entstehende Auswirkungen auf den menschlichen Körper besser verstehen zu können, ist die Untersuchung von isolierten Gold- und Silbernanopartikeln notwendig.

Dafür verwendet man spezielle Tests, die zeigen sollen, welche Folgen bei Wechselwirkung mit Lungenzellen auftreten können.

International wird die Verwendung von Chemikalien von REACH festgelegt. Zudem gibt es genau festgelegte Richtlinien, die sogenannten ISO-Richtlinien, die die Durchführung der Testverfahren regeln.

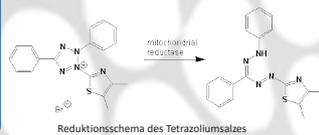
### Methoden

#### MTT-Test

Beim MTT-Test werden Lungenzellen Gold- und Silbernanopartikel im Größenbereich von 60-150 nm ausgesetzt und anschließend geprüft, wie der Stoffwechsel der Zellen auf diesen Kontakt reagiert. Um den Anteil der überlebenden Zellen darzustellen, wird das gelbgefärbte Salz Tetrazolium zugesetzt, das durch mitochondriale Reduktion in lebenden Zellen eine Violettfärbung zeigt.



Lungenzellen, Tetrazoliumsalz und unterschiedlich konzentrierte Gold- und Silbernanopartikel in einer 96-well-plate



#### NRU-Test

Beim Neutralrot-Test werden Lungenzellen Gold- und Silbernanopartikel im Größenbereich von 60-150 nm ausgesetzt und anschließend geprüft, wie Zellen auf diesen Kontakt reagieren. Um den Anteil der überlebenden Zellen darzustellen, wird in diesem Fall der Farbstoff Neutralrot zugesetzt, der von zelleigenen Lysosomen aufgenommen werden kann. Während lebende Zellen diesen Farbstoff speichern, was eine Rot-Pink-Färbung bewirkt, setzen abgestorbene Zellen den Farbstoff wieder frei.



Lungenzellen, Neutralrot und unterschiedlich konzentrierte Gold- und Silbernanopartikel in einer 96-well-plate



### Ergebnisse

#### Goldnanopartikel

Die beiden oben genannten Testverfahren mit Goldnanopartikeln zeigen, dass bereits bei einer Konzentration von 100 µg/mL Goldnanopartikel ein Zellsterben deutlich sichtbar wird.

Erhöht man die Konzentration der Goldnanopartikel auf 200 µg/mL, wird die Zellviabilität um 25 % verringert, das heißt, 25 % aller Lungenzellen werden ab dieser Konzentration getötet.



#### Silbernanopartikel

Die beiden oben genannten Testverfahren mit Silbernanopartikeln zeigen, dass erste morphologische Veränderungen der Lungenzellen ab einer Partikelkonzentration von 25 µg/mL erkennbar werden. Die abgestorbenen Lungenzellen bilden dabei unter dem Mikroskop sichtbare Agglomerate.

Eine Konzentration von 50 µg/mL bewirkt ein Absterben von 25 % der Lungenzellen, bei 100 µg/mL beträgt die Mortalitätsrate 93 %.

Ab einer Konzentration von 200 µg/mL finden sich keine lebenden Zellen mehr, was auf die hochtoxische Wirkung von Silbernanopartikeln auf Lungenzellen schließen lässt.



### Was lernen wir daraus?

Trotz des technischen Einsatzes in vielen Alltagsprodukten, sollten die potenziell negativen Auswirkungen, wie die hier untersuchten hochtoxischen Wirkungen, der Gold- und Silbernanopartikel nicht unterschätzt werden.

