

## *Toxicity Assessment of Some Conventionally Manufactured Nanoparticles to Daphnia Magna*

Fathollah Gholami-Borujeni<sup>1,2</sup>,  
Fateme Nejat-zadeh<sup>3</sup>,  
Mostafa Jamalani<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, Abadan Faculty of Medical Sciences, Abadan, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, Addiction Institute, Health Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Koy, Iran

<sup>4</sup> Assistant Professor, Department of Biochemistry, Abadan Faculty of Medical Sciences, Abadan, Iran

(Received November 9, 2019; Accepted January 21, 2020)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Nanoparticles (NPs) are used in different industries, including electronics, pharmaceuticals, cosmetics, healthcare, and environmental processes. Therefore, it is necessary to evaluate their toxicity in the aquatic environment.

**Materials and methods:** The acute toxicity of six different kinds of nano-sized particulates (SiO<sub>2</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>, ZnO, and MgO) to *Daphnia Magna* were evaluated using the acute toxicity test, according to the U.S EPA method at various exposure times in different concentrations. The LC<sub>50</sub> values and their corresponding 95% confidence intervals were calculated using the EPA Probit analysis program.

**Results:** The highest to lowest LC<sub>50</sub> of mortality of the NPs studied were as follows: Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>>Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>>SiO<sub>2</sub>>TiO<sub>2</sub>>MgO>ZnO. At 96 hours of exposure time, NPs caused morphological change in the gut tract of *D. Magna*.

**Conclusion:** In this study, all physicochemical properties of the NPs were similar to those reported in previous studies. Among these properties, chemical composition and purity of NPs are the major factors that could influence the toxicity of NPs to *D.Magna*.

**Keywords:** nano-particles, acute toxicity, bio-assay, *Daphnia magna*

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (182): 12-20 (Persian).

\* Corresponding Author: Fathollah Gholami-Borujeni - Abadan School of Medical Sciences, Abadan, Iran (E-mail: gholami\_b\_f@yahoo.com)

## ارزیابی سمیت برخی از نانوذرات متداول با استفاده از دافنیا مگنا (*Daphnia Magna*)

فتح اله غلامی بروجنی<sup>1 و 2</sup>فاطمه نجات زاده<sup>3</sup>مصطفی جمالان<sup>4</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** نانوذرات در صنایع مختلف مانند صنایع الکترونیک، بهداشتی، دارویی، آرایشی و فرایندهای زیست محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرند. بنابراین ارزیابی سمیت آن‌ها در محیط‌های آبی لازم به نظر می‌رسد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، سمیت حاد 6 نوع نانوذره پرمصرف تولیدی در ایران ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) با استفاده از تست سمیت حاد بر روی دافنیا مگنا، مطابق روش US-EPA با غلظت‌های مختلف و در زمان‌های متعدد مورد بررسی قرار گرفتند. غلظت کشنده 50 درصد ( $\text{LC}_{50}$ ) در فاصله اطمینان 95 درصد براساس روش سازمان حفاظت محیط زیست امریکا و استفاده از برنامه تجزیه و تحلیل Probit محاسبه شد.

**یافته‌ها:** نتایج به دست آمده نشان داد که بالاترین و کم‌ترین غلظت کشنده 50 درصد ( $\text{LC}_{50}$ ) برای 6 نانوذره مورد مطالعه به ترتیب  $\text{ZnO} > \text{MgO} > \text{TiO}_2 > \text{SiO}_2 > \text{Fe}_2\text{O}_3 > \text{Al}_2\text{O}_3$  بود. نانوذرات  $\text{ZnO}$  بالاترین میزان سمیت حاد و  $\text{Al}_2\text{O}_3$  کم‌ترین میزان سمیت حاد در بین نانوذرات ساخته شده ایرانی مطالعه شده بر روی دافنیا مگنا داشتند. در این مطالعه اثر تغییرات مورفولوژیکی در دستگاه گوارش دافنیا مگنا در 96 ساعت قرار گرفتن در معرض تماس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات باعث تغییر مورفولوژیکی در دستگاه گوارش آن‌ها شده است.

**استنتاج:** با توجه به این که در مطالعه ما تمامی ویژگی‌های نانوذرات مورد بررسی، با سایر مطالعات یکسان بود، می‌توان نتیجه گرفت که از بین پارامترهای مختلف تاثیرگذار بر میزان سمیت نانوذرات، ترکیب شیمیایی و خلوص نانوذرات مهم‌ترین عواملی هستند که می‌توانند بر سمیت نانوذرات بررسی شده بر روی دافنیا مگنا تأثیرگذار باشند.

**واژه‌های کلیدی:** نانو ذرات، سمیت حاد، سنجش زیستی، دافنیا مگنا

### مقدمه

ذرات از فاضلاب تولیدی این صنایع و یا پسماندهای تولیدی دیگر مانند زباله جامد به محیط زیست تخلیه می‌شوند. ممکن است این نانوذرات تخلیه شده اثرات زیست محیطی مضر داشته باشند (2).

امروزه از نانوذرات در صنایع مختلف مانند صنایع الکترونیک، صنایع شوینده و آرایشی و بهداشتی، دارویی و فرایندهای زیست محیطی (تصفیه آب و فاضلاب) و ... استفاده می‌شود (1، 2). برخی از این نانو

E-mail: gholami\_b\_f@yahoo.com

**مؤلف مسئول: فتح الله غلامی - ساری:** کیلومتر 18 جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبراعظم، دانشکده بهداشت

1. استادیار، گروه بهداشت محیط، دانشکده علوم پزشکی آبادان، آبادان، ایران

2. استادیار، گروه بهداشت محیط، پژوهشکده اعتیاد، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

3. استادیار، گروه کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوی، خوی، ایران

4. استادیار، گروه یوشیمی، دانشکده علوم پزشکی آبادان، آبادان، ایران

تاریخ دریافت: 1398/8/18 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1398/9/24 تاریخ تصویب: 1398/11/1

است (1). سمیت برخی از محصولات نانوذرات از قبیل ZnO، Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>، Nano Carbone، TiO<sub>2</sub> و MgO در تصفیه آب و فاضلاب توسط محققین مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (12-14). طبق ادبیات موجود، مطالعات زیادی در مورد تأثیر نانوذرات در سیستم‌های *in vitro* و *in vivo* انجام شده است (13، 15). برخی از روش‌های آزمایش سمیت آزمایشگاهی، وقت‌گیر، خسته‌کننده و گران قیمت هستند. بنابراین، نیاز به تدوین روش سنجش مقرون به صرفه، حساس و سریع برای بررسی میزان سمیت نانوذرات در محیط آبی وجود دارد (16). در سال‌های گذشته سنجش زیستی با استفاده از بی‌مهرگان دریایی که حساسیت بالایی به ترکیبات سمی دارند توسعه یافته است. با استفاده از این روش سنجش سمیت، اثرات زیست محیطی طولانی مدت از ترکیبات سمی را می‌توان پیش‌بینی کرد. در میان آن‌ها، سنجش‌های کوتاه مدت (12 تا 96 ساعت تماس) برای ارزیابی اثرات کشنده آلاینده‌های محیطی در مقیاس آزمایشگاهی و میدانی با استفاده از تست سمیت کوتاه مدت بر روی دافنیا مگنا (*Daphnia magna*) با موفقیت انجام شده است (17). دافنیا، که معمولاً به عنوان کک آبی شناخته می‌شود، از دسته سخت پوستان کوچک است که در آب شیرین مانند دریاچه‌ها، حوضچه‌ها، رودخانه‌ها و نهرها زندگی می‌کند و به عنوان ارگانیسم بسیار مناسبی برای استفاده در سنجش‌های زیستی به شمار می‌روند (18). این موجودات نسبت به تغییرات در مواد شیمیایی آب حساس هستند و تکثیر آن‌ها در مقیاس آزمایشگاهی ساده و ارزان می‌باشد. این موجودات در طی چند روز بالغ می‌شوند (19-21). از آنجا که دافنیا مگنا شفاف است، می‌توان زیست آزمونی را با استفاده از تغییرات فیزیولوژیکی غیر از مرگ را بر روی این ارگانیسم‌ها انجام داد. بررسی متون نشان می‌دهد، تاکنون گزارش کاملی در مورد سمیت نانوذرات تولیدی در ایران وجود ندارد. هدف از این مطالعه بررسی میزان سمیت 6 محصول نانوذرات ایرانی تا 12 طی (SiO<sub>2</sub>، Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>، Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>، TiO<sub>2</sub>، ZnO، MgO)

استفاده از نانو ذرات در زمینه‌های مختلف فناوری نانو بدون هیچ‌گونه مقررات تخلیه زیست محیطی توسط نهادهای قانونی در حال رشد و توسعه است. طبق برخی گزارش‌ها حدود 2000 تن نانوذره در سال 2004 تولید شده و در برخی دیگر از گزارش‌ها پیش‌بینی شده است که این میزان تولید تا سال 2020 به 58000 تن افزایش یابد (4،3). با توجه به روند ذکر شده، میزان تولید و کاربرد نانوذرات همچنان پیش‌تر می‌شود و در نتیجه میزان مواجهه محیطی و انسانی نیز در حال افزایش می‌باشد (6،5). عدم وجود اطلاعات در مورد سمیت و اثرات بهداشتی و زیست محیطی این مواد، احتمال ایجاد عوارض جانبی نانومواد بر محیط، سلامت انسان و اهداف توسعه پایدار هنوز یک چالش بزرگ است (7،1). برخی گزارش‌ها نشان داده بودند که نانوذرات می‌توانند تأثیر نامطلوبی بر انواع اکوسیستم‌های محیطی داشته باشند (8). پیش از این گزارش شده بود که نانوذرات توسط خون انسان و حیوانات قابل جذب بوده و از طریق خون به سایر ارگان‌ها و بافت‌هایی مانند کبد، قلب و سلول‌های خون می‌رسند (9،3). با توجه به پیشینه ادبیات منتشر شده، مطالعات در مورد سمیت نانوذرات هنوز ناقص است. اطلاعات مربوط به رفتار و سمیت نانوذرات عمدتاً از مطالعات انجام شده بر روی نانوذرات استنشاق شده بر روی بافت ریه بوده است. در حالی که، نانوذرات با توجه به اندازه، شکل، حلالیت، ترکیب شیمیایی و فعالیت ویژه سطحی‌شان می‌توانند تأثیرات متفاوتی بر موجودات زنده مختلف داشته باشند (10،7). تحقیقات متعددی نشان داد که بسیاری از خصوصیات فیزیکی شیمیایی نانوذرات، نظیر توزیع اندازه، شکل، مساحت سطح، الکترواستاتیک ذرات، مورفولوژی، ترکیب شیمیایی، پایداری فیزیکی شیمیایی، ساختار کریستالی، انرژی سطح و تجمع‌پذیری ممکن است به‌طور قابل توجهی در ایجاد سمیت در محیط در خصوص این نانو مواد تأثیر گذار باشند (11). برخی گزارش‌ها نشان می‌دهد که ایران طی سال‌های اخیر پیشرفت قابل توجهی در زمینه فناوری نانو داشته

96 ساعت با استفاده از روش زیستی آزمون بر روی دافنیا مگنا بوده است.

## مواد و روش ها

مشخصات مواد مورد استفاده

در این مطالعه تجربی تمام 6 نانوذرات سنتز شده به صورت تجاری از شرکت های مختلف تولیدکننده معروف نانوذرات در ایران خریداری شده اند. ویژگی های فیزیکوشیمیایی نانو مواد مورد استفاده در این مطالعه در جدول شماره 1 آمده است.

جدول شماره 1: ویژگی های فیزیکوشیمیایی نانوذرات مورد مطالعه

ناتودره	قطر آئرو دینامیک (nm)	درصد خلوص	سطح ویژه (m <sup>2</sup> /g)
SiO <sub>2</sub>	21	≥ 84	600-785
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	20-40	88	40-60
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	80	78	138
TiO <sub>2</sub>	30	69	200-240
ZnO	40	87	35
MgO	20	89	60

آب نسبتاً سخت که حاوی (MgSO<sub>4</sub>) به میزان  $9/98 \times 10^{-4}$  مولار، CaSO<sub>4</sub> به میزان  $6/98 \times 10^{-4}$  مولار، NaHCO<sub>3</sub> به میزان  $2/28 \times 10^{-3}$  مولار، KCl به میزان  $1/07 \times 10^{-4}$  مولار) با سختی از  $5 \pm 170$  میلی گرم در لیتر به براساس CaCO<sub>3</sub>، قلیابیت  $110 \pm 5$  میلی گرم بر لیتر بر حسب CaCO<sub>3</sub>، pH حدود 7/8 به عنوان محیط کشت مناسب برای رشد و تکثیر دافنیا مگنا استفاده شد، که هر روزه برای سیستم کشت به طور مداوم تهیه می شد. تمامی مواد مورد استفاده با گرید آزمایشگاهی از شرکت های معتبر خریداری شدند (4، 17).

### آماده سازی دافنیا مگنا

در این مطالعه دافنیا مگنای اولیه مورد استفاده برای کشت انبوه از مرکز پرورش ماهی شیلات کرج تهیه شد. از یک عدد دافنیا مگنا به منظور کشت انبوه به روش بکرزایی استفاده شد تا صفات ژنتیکی همه دافنیاهای مورد آزمایش یکسان باشد. برای تکثیر دافنیا مگنا از

ظروف شیشه ای دهان گشاد با حجم 5 لیتر که حاوی 3 لیتر محیط کشت بود، استفاده شد. محیط کشت دافنیا مگنا به صورت هفتگی عوض شده و دافنیا مگناهای مرده از آن خارج می شد و به صورت 24 ساعته با پمپ هوای آکواریومی و به صورت ملایم هوادهی می شد. کلیه مراحل تهیه، کشت و آزمون در 20 درجه سلسیوس و 16 ساعت روشنایی و به دنبال آن 8 ساعت تاریکی انجام شد.

ارزیابی سمیت انواع مختلف نانوذرات توسط فرآیند سنجش زیستی

برای تهیه غلظت های مختلف نانوذرات مورد آزمون، ابتدا غلظت نهایی 1000 میلی گرم در لیتر به عنوان محلول مادر تهیه شد و به منظور اختلاط نانوذرات و جلوگیری از رسوب شدن نانوذرات با روش شیکر در دمای آزمایشگاه بهم زده شدند. همه محلول های آزمایش بلافاصله قبل از استفاده با رقیق کردن هر کدام از نانوذرات مورد مطالعه با محلول مصنوعی ساخته شده بر اساس روش ذکر شده تهیه می شدند. غلظت مورد آزمون از محلول موجود در بالا (1000 میلی گرم در لیتر) تهیه شد تا غلظت 1، 10، 50، 200، 500 میلی گرم بر لیتر در هر نانوذرات با استفاده از محلول مصنوعی ذکر شده در بالا آماده شد. تمام آزمایش ها به صورت سه بار تکرار انجام شد و داده های به دست آمده از میانگین سه آزمایش مجزا مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه از دافنیا مگنا به عنوان یک ارگانسیم تست استاندارد طبق پروتکل ارائه شده توسط سازمان های مختلف از جمله سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا EPA، سازمان همکاری اقتصادی و توسعه (OECD) و پروتکل های استاندارد سازمان بین المللی استاندارد (ISO) انجام شده است (22). مراحل آزمون سمیت به این صورت بود که ابتدا غلظت های مختلف نانوذرات مورد آزمایش (1، 10، 50، 200، 500 میلی گرم در لیتر) نمونه های آب داخل بشرهای جداگانه تهیه شده و

در هر غلظت 10 عدد دافنیا مگنا قرار داده شد. برای آزمون از دافنیاهای تقریباً هم اندازه و هم سن استفاده گردید. تعداد مرگ و میر در نمونه‌ها و غلظت‌های مختلف در 24، 48 و 96 ساعت برای محاسبه غلظت کشنده 50 درصد در این ساعات شمارش و ثبت گردید. روش انجام آزمایش‌ها براساس کتاب روش‌های استاندارد و دستورالعمل شماره R-821-02-012 سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا بود (19). نتایج مرگ و میر دافنیامگناهای مورد آزمایش (مرگ و میر در هر ظرف) با استفاده از میکروسکوپ مجهز به دوربین دیجیتال (المپوس، آلمان) بررسی شد. در طول آزمایش هر کدام از دافنیا مگنا که قادر به شنا در 15 ثانیه نبودند مرده فرض شد و اگر از تحریک ملایم برخوردار بودند به عنوان بی تحرک در نظر گرفته می‌شدند.

#### تجزیه و تحلیل آماری

LC<sub>50</sub> (دوز کشنده 50 درصد) و EC<sub>50</sub> (دوز - پاسخ 50 درصد) ناشی از بی حرکتی در آزمودنی‌ها با فاصله اطمینان 95 درصد با استفاده از برنامه تجزیه و تحلیل Probit ارایه شده توسط EPA محاسبه شد (نسخه 1/5).

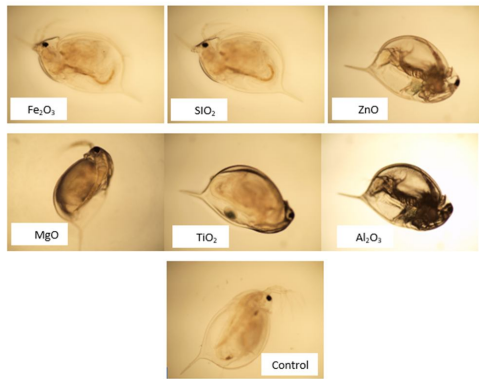
#### یافته‌ها

##### ارزیابی سمیت نانوذرات با استفاده از دافنیا مگنا

میزان مرگ و میر دافنیا مگنا تیمار شده با نانوذرات تولید شده در ایران (با مشخصات ذکر شده در جدول شماره 1) در مدت زمان‌های 24، 48، 72 و 96 ساعت با استفاده از برنامه پروبیت رایانه‌ای (نسخه 1/5) مورد بررسی قرار گرفت و نتایج در نمودار شماره 1 آورده شده است. با توجه به نتایج، LC<sub>50</sub> سمیت حاد مرگ و میر برای نانوذرات SiO<sub>2</sub> به ترتیب 110، 105، 95 و 92 میلی گرم در لیتر به ترتیب در زمان 24، 48، 72 و 96 ساعت تماس بوده است. در نمونه‌های شاهد فقط کم‌تر از 1 درصد مرگ و میر برای دافنیا مگنا مشاهده شد. LC<sub>50</sub> سمیت حاد مرگ و میر برای نانوذرات Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> به

ترتیب 115، 101، 90 و 87 میلی گرم در لیتر در زمان تماس‌های 24، 48، 72 و 96 ساعت بوده است و در نمونه‌های شاهد کم‌تر از 1 درصد مرگ و میر مشاهده شد. برای نانوذرات Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>، LC<sub>50</sub> سمیت حاد مرگ و میر به ترتیب 178، 161، 126 و 120 میلی گرم در لیتر در زمان تماس‌های 24، 48، 72 و 96 ساعت بوده است و در نمونه‌های شاهد کم‌تر از 1/3 درصد مرگ و میر مشاهده شد. برای نانوذرات TiO<sub>2</sub>، LC<sub>50</sub> سمیت حاد مرگ و میر به ترتیب 45، 41، 35 و 28 میلی گرم در لیتر به ترتیب در زمان تماس‌های 24، 48، 72 و 96 ساعت بوده است و در نمونه‌های شاهد کم‌تر از 1/2 درصد مرگ و میر مشاهده شد. برای نانوذرات ZnO، LC<sub>50</sub> سمیت حاد مرگ و میر به ترتیب 1/4، 0/8، 0/35 و 0/24 میلی گرم در لیتر در زمان تماس‌های 24، 48، 72 و 96 ساعت بوده است و در نمونه‌های شاهد کم‌تر از 1/2 درصد مرگ و میر مشاهده شد. برای نانوذرات MgO، LC<sub>50</sub> سمیت حاد مرگ و میر به ترتیب 13/3، 2/16، 1/98 و 1/09 میلی گرم در لیتر به ترتیب در زمان تماس‌های 24، 48، 72 و 96 ساعت بوده است و در نمونه‌های شاهد کم‌تر از 1/04 درصد مرگ و میر مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد، بالاترین و پایین‌ترین LC<sub>50</sub> برای 6 نانو ذره مورد مطالعه تولید شده ایرانی بر اساس ZnO > MgO > TiO<sub>2</sub> > SiO<sub>2</sub> > Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> > Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> بوده است. هر چه LC<sub>50</sub> نانوذرات کم‌تر باشد نشان می‌دهد دارای سمیت بالاتری می‌باشند. این ترتیب بالاترین میزان سمیت حاد و پایین‌ترین میزان سمیت حاد در بین نانوذرات ساخته شده ایرانی مورد مطالعه بوده است (نمودار شماره 1).

EC<sub>50</sub> (دوز پاسخ 50 درصد) با فاصله اطمینان 95 درصد مربوط به نانوذرات مورد مطالعه تولید شده ایرانی با استفاده از برنامه Probit محاسبه شده است که در جدول شماره 2 نشان داده شده است.

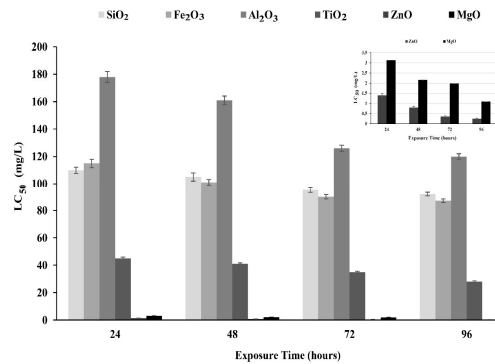


تصویر شماره 1: جذب نانوذرات و تغییرات مورفولوژیکی توسط دافنیا مگنا

## بحث

نتایج به دست آمده نشان داد که افزایش مدت زمان قرار گرفتن در معرض تماس با نانوذرات منجر به افزایش مرگ و میر در دافنیا مگنا شده است، به طوری که قرار گرفتن در معرض  $\text{SiO}_2$  از 24 تا 96 ساعت باعث افزایش بیش از 17 درصد سمیت برای نانوذرات  $\text{SiO}_2$  شده است. علاوه بر آن، عکس‌های میکروسکوپ دیجیتالی نشان می‌دهد که بعد از 96 ساعت تغییر جزئی مورفولوژیکی در دافنیا مگنا مشاهده می‌شود.

برخی محققان گزارش پیش از این کردند که ذرات با اندازه کم‌تر از 50 میکرومتر توسط دافنیا مگنا مصرف می‌شوند (23)، اندازه تمام نانو ذرات مورد استفاده در این مطالعه کم‌تر از 50 میکرومتر بود و به نظر می‌رسد که جذب زیستی تمام نانوذرات مورد مطالعه توسط دافنیا مگنا به راحتی انجام شده است. بررسی مطالعات نشان می‌دهد نانو ذرات  $\text{SiO}_2$  به شکل کلی دارای اثر سمی بر روی موجودات آبی نیستند، اما ساختار شیمیایی نانوذرات ایرانی و یا ناخالصی‌های موجود در آن‌ها ممکن است منجر به افزایش سمیت نانوذرات مورد مطالعه شده باشد (24). نانوذرات اکسید آهن به دلیل سمیت کم و ساختار شیمیایی مخصوص سطح آن‌ها مانند نانو  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  به طور گسترده در صنایع مختلفی از جمله، زیست پزشکی، سلولی و مولکولی، داروسازی بالینی و فرآیند ترمیم بافت



نمودار شماره 1: غلظت کشنده 50 درصد ( $\text{LC}_{50}$ ) مربوط به دافنیا مگنا در تماس با نانوذرات مختلف

جدول شماره 2:  $\text{EC}_{50}$  (دوز پاسخ 50 درصد) با فاصله اطمینان 95 درصد مربوط به نانوذرات مورد مطالعه

95% CI	$\text{EC}_{50}$ (mg/L)	Nanoparticle
100.23-124.51	115/23	$\text{SiO}_2$
57.34-78.45	67/12	$\text{Fe}_2\text{O}_3$
78.23-103.32	89/45	$\text{Al}_2\text{O}_3$
20.43-35.61	23/3	$\text{TiO}_2$
0.56.23-0.867	0/68	ZnO
1.41-2.354	1/72	MgO

## جذب نانوذرات توسط دافنیا مگنا

از یک میکروسکوپ با یک دوربین دیجیتال برای تعیین تغییرات در مورفولوژی دافنیا مگنا استفاده شد. تغییر مورفولوژیکی در 96 ساعت تماس با نانوذرات مورد مطالعه  $\text{LC}_{50-96\text{h}}$  در تصویر شماره 1 نشان داده شده است. جذب نانوذرات توسط دافنیا مگنا پس از 96 ساعت قرار گرفتن در معرض تماس نانوذرات نشان می‌دهد که مقادیر زیادی از نانوذرات در روده دافنیا مگنا پس از قرار گرفتن در معرض تماس یافت شد، اما در نمونه‌های شاهد این لکه‌های تاریک مشاهده نشد. تمام نانوذراتی که در این مطالعه آزمایش شده‌اند به راحتی توسط ارگانسیم‌های آبی قابل مصرف هستند. این نتایج نشان می‌دهد که قرار گرفتن موجودات آبی در معرض آبی که چنین نانوذراتی دارد می‌تواند خطر زیست محیطی ناشی از تخلیه این مواد به ویژه برای ارگانسیم‌های آبی و مخصوصاً گونه‌هایی که خاصیت فیلتر کنندگی دارند، ایجاد کند.

بر لیتر بوده است. با توجه به نتایج آزمایش‌های تجربی در مورد سمیت نانوذرات تولید شده در ایران، می‌توان نتیجه گرفت که تمام نانوذرات مورد مطالعه در این مطالعه، دارای اثر سمی برای اکوسیستم‌های آبی بوده و بالاترین و پایین‌ترین LC<sub>50</sub> برای 6 نانوذرات تولید شده در ایران به ترتیب  $\text{Al}_2\text{O}_3 > \text{Fe}_2\text{O}_3 > \text{SiO}_2 > \text{TiO}_2 > \text{MgO} > \text{ZnO}$  بوده است.

نتایج این مطالعه با تایید نتایج به دست آمده در مطالعات پیشین بار دیگر تایید می‌کند که خواص فیزیکوشیمیایی نانوذرات از جمله توزیع اندازه، شکل، مساحت سطح، خواص الکترواستاتیک زبری سطح، مورفولوژی عمومی، ترکیب شیمیایی، پایداری، ساختار کریستالی، انرژی سطح و تجمع‌پذیری در شرایط محیطی مختلف می‌تواند به طور قابل توجهی بر روی سمیت نانوذرات تأثیر گذار باشد. با توجه به این که تمامی ویژگی‌های نانوذرات مورد بررسی، با سایر مطالعات یکسان بوده است می‌توان گفت از بین پارامترهای مختلف فوق، ترکیب شیمیایی و خلوص نانوذرات مهم‌ترین عواملی هستند که می‌توانند بر سمیت نانوذرات به محیط آبی تأثیر گذار باشند. در نهایت به نظر می‌رسد که خلوص و ترکیب شیمیایی نانوذرات دلیل اصلی متفاوت بودن LC<sub>50</sub> و EC<sub>50</sub> برای دافنیا مگنا در مقایسه با دیگر مطالعات بوده است.

### سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی دانشکده علوم پزشکی آبادان با کد 95 U - 1121 و کد اخلاق IR.ABADANUMS. 1395.167 می‌باشد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت تحقیقات دانشکده بخاطر حمایت مالی پژوهش حاضر تشکر و قدردانی نمایند.

مورد استفاده قرار می‌گیرند (25). این ذرات می‌توانند به صورت یک فرم جامد در آب به صورت سوسپانسیون باقی بمانند و به سایر ذرات یا موجودات آبی متصل شوند یا می‌توانند به عنوان حامل‌های آلاینده‌های آبی مانند آرسنیک و یا سایر آلاینده‌های سمی عمل کنند (26). به همین خاطر مطالعات سمیت این نانوذرات به تنهایی به صورت ناقص انجام شده است. Zhu و همکاران (2009) نشان دادند، برای نانوذرات  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ، اگرچه در برخی موارد در دافنیا مگنا اثرات نانوذره به صورت بی‌حسی و مرگ و میر رخ داده است، EC<sub>50</sub> 48 ساعته و LC<sub>50</sub> بیش از 500 میلی‌گرم در لیتر محاسبه شده است که با نتایج مطالعات ما متفاوت است (4).  $\text{TiO}_2$  سال‌هاست که به عنوان یک محصول نانوی بی‌اثر و غیر سمی کاربرد دارد. برخی از محققین قبلاً گزارش کرده بودند که نانوذرات  $\text{TiO}_2$  تهیه شده توسط فرایند فراصوت منجر به مرگ و میر تنها 9 درصد از دافنیا مگناهای مورد مطالعه شده است و غلظت 500 میلی‌گرم در لیتر به عنوان دوز کشنده 50 درصد گزارش شده است که تفاوت زیادی با نتایج این مطالعه (45 میلی‌گرم بر لیتر دوز کشنده 50 درصد در 24 ساعت تماس) دارد (27). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که برخلاف سمیت حاد، سمیت مزمن ZNO کم‌تر مورد مطالعه واقع بینانه قرار گرفته است، زیرا به طور کلی در غلظت کم‌تر از 1 میلی‌گرم در لیتر در محیط اتفاق می‌افتد. در غلظت‌های پایین، رفتار نانوذرات می‌تواند متفاوت باشد و مکانیسم‌های سمیت مزمن با توجه به سمیت حاد بهتر می‌تواند مورد مطالعه قرار گیرد (28). بررسی متون نشان می‌دهد که هیچ اثر سمیتی در مورد نانوذرات MgO برای دافنیا مگنا وجود ندارد (21). ولی مطالعه بر روی نانوذرات تولید شده ایرانی نشان داد غلظت کشنده 50 درصد نانوذرات MgO در مدت 24 ساعت تماس برابر با 13/3 میلی‌گرم

### References

1. Ghazinoory S, Ghazinouri R. Nanotechnology

and sociopolitical modernity in developing

- countries; case study of Iran. *Technological and Economic Development of Economy* 2009; 15(3): 395-417.
2. Goswami L, Kim K-H, Deep A, Das P, Bhattacharya SS, Kumar S, et al. Engineered nano particles: Nature, behavior, and effect on the environment. *J Environ Manage* 2017; 196(Suppl C): 297-315.
  3. Taghavi SM, Momenpour M, Azarian M, Ahmadian M, Souri F, Taghavi SA, et al. Effects of nanoparticles on the environment and outdoor workplaces. *Electron Physician* 2013; 5(4): 706-712.
  4. Zhu X, Zhu L, Chen Y, Tian S. Acute toxicities of six manufactured nanomaterial suspensions to *Daphnia magna*. *J Nanoparticle Res* 2009; 11(1): 67-75.
  5. Li R, Xiao F, Amirhanian S, You Z, Huang J. Developments of nano materials and technologies on asphalt materials-A review. *Constr Build Mater* 2017; 143(SupplC): 633-648.
  6. Oliveira MLS, Navarro OG, Crissien TJ, Tutikian BF, da Boit K, Teixeira EC, et al. Coal emissions adverse human health effects associated with ultrafine/nano-particles role and resultant engineering controls. *Environ Res* 2017; 158(Suppl C): 450-455.
  7. Stuer-Lauridsen F, Kamper A, Borling P, Petersen GI, Hansen SF, Baun A. Survey of nanotechnological consumer products. *Survey of Chemical Substances in Consumer Products*. 2007; 81.
  8. Alkilany AM, Murphy CJ. Toxicity and cellular uptake of gold nanoparticles: what we have learned so far? *J Nanopart Res* 2010; 12(7): 2313-2333.
  9. Jeevanandam J, Chan YS, Danquah MK. Nano-formulations of drugs: Recent developments, impact and challenges. *Biochimie* 2016; 128(Suppl C): 99-112.
  10. Napierska D, Thomassen LC, Rabolli V, Lison D, Gonzalez L, Kirsch Volders M, et al. Size dependent cytotoxicity of monodisperse silica nanoparticles in human endothelial cells. *Small* 2009; 5(7): 846-853.
  11. Carnovale C, Bryant G, Shukla R, Bansal V. Size, shape and surface chemistry of nano-gold dictate its cellular interactions, uptake and toxicity. *Prog Mater Sci* 2016; 83(Supplement C): 152-190.
  12. Azhagurajan A, Selvakumar N. Impact of nano particles on safety and environment for fireworks chemicals. *Process Saf Environ* 2014; 92(6): 732-738.
  13. Bondarenko O, Juganson K, Ivask A, Kasemets K, Mortimer M, Kahru A. Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: a critical review. *Arch Toxicol* 2013; 87(7): 1181-1200.
  14. Hu J, Wang D, Wang J, Wang J. Bioaccumulation of Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (magnetic) nanoparticles in *Ceriodaphnia dubia*. *Environ Pollut* 2012; 162: 216-222.
  15. Braydich-Stolle L, Hussain S, Schlager JJ, Hofmann M-C. In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. *Toxicol Sci* 2005; 88(2): 412-419.
  16. Granger Joly de Boissel P, Gonzalez P, Buleté A, Daffe G, Clérandeau C, Vulliet E, et al. An innovative and integrative assay for toxicity testing using individual fish embryos. Application to oxazepam. *Chemosphere* 2017; 181: 468-477.
  17. Jaafarzadeh N, Hashempour Y, Angali KA. Acute toxicity test using cyanide on *Daphnia*



- magna by flow-through system. *J Water Chem Technol* 2013; 35(6): 281-286.
18. Ahmadi M, Jaafarzadeh Haghighifard N, Mirali S, Jorfi S, Dinarvand F, Alavi N. Efficiency Study on Nanophotocatalytic Degradation and Detoxification of C.I. direct blue 86 from Aquatic Solution Using UVA/TiO<sub>2</sub> and UVA/ZnO. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2016; 26(143): 145-159 (Persian).
  19. Bacchetta R, Santo N, Marelli M, Nosengo G, Tremolada P. Chronic toxicity effects of ZnSO<sub>4</sub> and ZnO nanoparticles in *Daphnia magna*. *Environ Res* 2017; 152: 128-140.
  20. Bernot RJ, Brueseke MA, Evans White MA, Lamberti GA. Acute and chronic toxicity of imidazolium based ionic liquids on *Daphnia magna*. *Environ Toxicol Chem* 2005; 24(1): 87-92.
  21. Bownik A. *Daphnia* swimming behaviour as a biomarker in toxicity assessment: A review. *Sci Total Environ* 2017; 601: 194-205.
  22. Gholami-Borujeni F, Nejatizadeh-Barandozi F, Aghdasi H. Data on effluent toxicity and physicochemical parameters of municipal wastewater treatment plant using *Daphnia Magna*. *Data Brief* 2018; 19: 1837-1843.
  23. Hund-Rinke K, Simon M. Ecotoxic effect of photocatalytic active nanoparticles (TiO<sub>2</sub>) on algae and daphnids (8 pp). *Environ Sci Pollut Res* 2006; 13(4): 225-232.
  24. Adams LK, Lyon DY, Alvarez PJ. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, and ZnO water suspensions. *Water Res* 2006; 40(19): 3527-3532.
  25. Tombácz E, Turcu R, Socoliuc V, Vékás L. Magnetic iron oxide nanoparticles: Recent trends in design and synthesis of magnetoresponsive nanosystems. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 468(3): 442-453.
  26. Hu L, Xia Z. Application of ozone micro-nano-bubbles to groundwater remediation. *J Hazard Mater* 2018; 342(Suppl C): 446-453.
  27. Tan C, Wang WX. Influences of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on dietary metal uptake in *Daphnia magna*. *Environ Pollut* 2017; 231(Part 1): 311-318.
  28. Lewinski N, Colvin V, Drezek R. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small* 2008; 4(1): 26-49.