

بررسی سمیت نانو ذرات اکسید روی تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ با استفاده از دافنیامگنا

فاطمه مؤمنی‌ها^۱، کاظم ندافی^۲، محمد صادق حسنونند^۳، رامین نبی‌زاده^۴، محسن حیدری^۴

چکیده

مقدمه: مسأله آلودگی محیط زیست به نانو ذرات که به تازگی در ایران وارد چرخه فرایندی صنایع گردیده است، از اهمیت چشم‌گیری برخوردار می‌باشد. یکی از این ترکیبات پرکاربرد نانو ذرات اکسید روی هستند که در این تحقیق، LC₅₀ ۲۴ و ۴۸ ساعته نانو ذرات اکسید روی تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ از طریق زیست آزمونی اندازه‌گیری شد.

روش‌ها: در ابتدا دافنیامگنا جهت انجام زیست آزمونی در داخل یک ظرف شیشه‌ای کشت داده شد. سپس با انجام آزمایش‌های دامنه‌یابی، گستره غلظت‌های مورد نظر تعیین شد و هر غلظت در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعته برای نانو ذرات اکسید روی به تنهایی و نانو ذرات اکسید روی تماس یافته با رنگ آبی ۲۹، مورد آزمایش قرار گرفت. روش انجام آزمایش‌های زیست آزمونی بر اساس روش‌های استاندارد انجام گرفت. جهت تعیین میزان مرگ دافنیامگنا در این مطالعه از آنالیز پروبیت نرم‌افزار SPSS^{۱۶} استفاده گردید و مقادیر LC₅₀ (Lethal concentration-50) در زمان‌های مختلف مشخص شد. سپس داده‌های حاصل از آنالیز پروبیت جهت ترسیم نمودارهای مربوط توسط نرم‌افزار Excel مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد که مقدار LC₅₀ ۲۴ ساعته نانو ذرات اکسید روی بدون تماس و تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ به ترتیب ۲/۶ و ۱/۸ میلی‌گرم در لیتر و مقادیر ۴۸ ساعته به ترتیب ۱/۹ و ۱/۲ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. مقدار NOEC ۲۴ ساعته نانو ذرات اکسید روی بدون تماس و تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ به ترتیب ۰/۹ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر و مقادیر ۴۸ ساعته به ترتیب ۰/۳۶ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد.

نتیجه‌گیری: با افزایش زمان تماس، مقدار LC₅₀ کاهش یافت؛ به عبارت دیگر سمیت نانو ذرات اکسید روی بر روی دافنیامگنا افزایش یافت؛ در نتیجه سمیت نانو ذرات تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ وابسته به زمان تماس با دافنیامگنا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سمیت، نانو ذرات اکسید روی، رنگ آبی ۲۹، زیست آزمونی، دافنیامگنا

نوع مقاله: تحقیقی

پدیرش مقاله: ۹۰/۱۲/۲۵

دریافت مقاله: ۹۰/۱۰/۵

مقدمه
انسان و محیط زیست جبران‌ناپذیر خواهد بود. نانو مواد در سال‌های اخیر توانسته‌اند به علت ویژگی‌های ممتاز الکتریکی، اپتیکی، مکانیکی و شیمیایی توجهات زیادی را به خود جلب

همواره توسعه صنایع جدید سبب ورود ترکیبات مخاطره آمیزی به محیط زیست می‌گردد که در برخی از موارد اثرات آن‌ها بر

۱- کارشناس ارشد، گروه بهداشت محیط، مرکز تحقیقات مواد زائد جامد، پژوهشکده محیط زیست، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران (نویسنده مسؤول)
Email: fa.momeniha@gmail.com

۲- دانشیار، گروه بهداشت محیط، پژوهشکده محیط زیست، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- دانشجوی دکتری، گروه بهداشت محیط، پژوهشکده محیط زیست، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴- دانشجوی دکتری، کمیته تحقیقات دانشجویی، گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نانو ذرات اکسید روی دارای کاربری‌های متعدد دیگری می‌باشند که از آن جمله می‌توان به صنایع لاستیک‌سازی، رنگ‌سازی، الکترونیک، لعاب، آرایشی و بهداشتی و پزشکی اشاره کرد. این مواد همچنین در صنایع نفت، گاز و پتروشیمی به عنوان کاتالیزور استفاده می‌گردند و در صنایع شیمیایی مختلف دیگر کاربرد وسیعی دارند (۶).

آنتی‌باکتریایی نانو ذرات اکسید روی در مطالعات مختلف اثبات شده است. در نتیجه این ترکیب پتانسیل تحریک‌پذیری و کاربرد به عنوان عامل ضد باکتریایی در حضور نور مرئی و فرابنفش را دارا می‌باشد (۷) و از این رو است که در فرمولاسیون بسیاری از فرآورده‌های ضد آفتاب و آرایشی و بهداشتی به کار رفته است. البته دانشمندان با بررسی‌هایی که بر روی نانو ذرات اکسید روی انجام داده‌اند، به این نتیجه رسیدند که این نانو ذرات در برابر نور UV با تولید رادیکال‌های آزاد موجب آسیب DNA در سلول‌های پوست می‌شوند.

همچنین نتایج برخی از پژوهش‌ها، نشان دهنده اثرات منفی نانو ذرات اکسید روی بر روی موجودات و سلول‌های هدف است؛ به طوری که در اثر تماس با نانو ذرات اکسید روی با دوز ۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موش‌ها دچار علائمی نظیر بی‌حالی، اسهال و استفراغ و حتی مرگ شدند (۸).

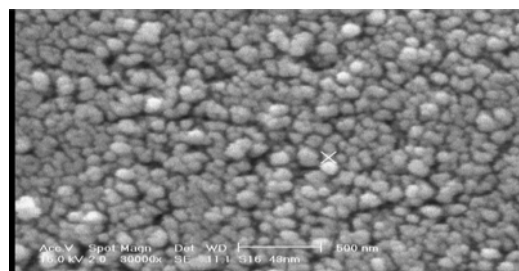
مطالعات محدودی در زمینه اثرات نانو ذرات بر روی گیاهان عالی صورت گرفته است. این مطالعات نشان داده‌اند که نانو ذرات اکسید روی مانع از جوانه‌زنی گیاه ذرت شده و منجر به کاهش رشد ریشه این گیاه می‌شود. نانو ذرات اکسید روی با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین سمیت را در بین سایر نانو ذرات بر روی گیاهان مورد آزمایش داشتند (۹).

زیست‌آزمونی (Bioassay) روشی است که عکس عمل‌های موجودات آبی برای آشکارسازی، اندازه‌گیری یا تأثیر یک یا چند ماده سمی یا عوامل محیطی به تنهایی یا توأم با یکدیگر را مورد بررسی قرار می‌دهد (۱۰). با استفاده از در معرض قرار دادن ارگانیسم‌ها در دوزهای مختلف آلوده کننده، زیست‌آزمونی برای ارزیابی اثرات سمیت آن‌ها انجام می‌گیرد که به وسیله پایش خصوصیات و رفتارهای بیولوژیکی این ارگانیسم‌ها و مقایسه آن‌ها با ارگانیسم‌هایی

کنند (۱). امروزه فن‌آوری نانو به سرعت در حال توسعه بوده و ممکن است اثرات قابل توجهی بر صنعت، جامعه و محیط زیست داشته باشد. در ایران نیز مسأله آلودگی زیست محیطی به نانو ذرات که به تازگی وارد چرخه فرایندی صنایع کشور گردیده است، از اهمیت چشم‌گیری برخوردار است؛ چرا که در صورت توجه به این مسأله و اقدامات صحیح در زمینه مدیریت این ترکیبات جدید، می‌توان از آلودگی‌های به وجود آمده جلوگیری به عمل آورد.

نانو مواد را می‌توان در چهار گروه؛ ۱. مواد با پایه کربن ۲. مواد با پایه فلز (شامل نانو ذرات فلزی و نانو ذرات اکسید فلزات) ۳. دندریمرها و ۴. کامپوزیت‌ها طبقه‌بندی نمود (۲). نانو ذرات اکسید فلزات دارای ویژگی فوتوکاتالیزوری، هدایت الکتریکی، جذب اشعه ماورای بنفش (Ultra-violent) و اکسید کنندگی نوری در برابر نمونه‌های شیمیایی و بیولوژیکی می‌باشند. تحقیقات گسترده‌ای در رابطه با نانو ذرات اکسید فلز با تمرکز روی قابلیت‌های ضد میکروبی و رفع آلودگی خودکار صورت گرفته است (۳).

یکی از مهم‌ترین نانو ذرات اکسید فلزی، نانو ذرات اکسید روی می‌باشد. این نانو ذرات در صنایع مختلف می‌توانند جانشین اکسید روی ماکرومولکول گردد و خواص ویژه‌ای به محصول نهایی دهند (۴). همان طور که در شکل ۱ نشان داده شده است نانو ذرات اکسید روی دارای ساختار کروی شکل می‌باشند.



شکل ۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) یا (Microscope scanning electron) نانو ذرات اکسید روی (۵)

اکسید روی دارای مزایای قابل توجهی است و استفاده از آن در فرایندهای فوتوکاتالیتیک، نظیر استفاده در تصفیه آب به عنوان ترکیبی مفید و مناسب از جایگاه ممتازی برخوردار است.

از جمله رنگ‌سازی استفاده می‌شود، این مطالعه با هدف بررسی سمیت نانو ذرات اکسید روی تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ با استفاده از دافنیامگنا به انجام رسید.

نتایج بسیاری از تحقیقات در کل نشان دهنده سمیت نانو ذرات اکسید روی و اثرات منفی آن بر روی موجودات و سلول‌های هدف است (۷). امروزه در دنیا از بین روش‌های پایش و سمیت، زیست‌آزمونی با دافینا به دلیل مزایای ویژه‌ای که دارد، به عنوان یکی از روش‌های متداول می‌باشد. به دلیل این که دافنیامگنا دارای زمان تولید مثل کوتاهی بوده و می‌توان آن را در آزمایشگاه با کمترین امکانات کشت داد (۱۰)؛ لذا این مطالعه زیست‌آزمونی با استفاده از دافنیامگنا انجام شد. Heinlaan و همکاران با بررسی سمیت انواع ترکیبات ZnO بر روی دافنیامگنا به این نتیجه رسیدند که تمامی ترکیبات آن از جمله نانو ذرات اکسید روی دارای سمیت می‌باشند (۴). همچنین در مطالعه‌ای سمیت نانو ذرات اکسید روی تماس یافته با Phenanthrene با استفاده از دافنیامگنا مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که سمیت این دو ماده در تماس با هم افزایش می‌یابد (۱۸). در مطالعات متعددی با بررسی خصوصیات رنگ‌های راکتیو، سمیت این رنگ‌ها به اثبات رسیده است (۱۹).

روش‌ها

در این مطالعه تجربی- کاربردی که در مقیاس پایلوتی در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد، سمیت نانو ذرات اکسید روی تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ با روش زیست‌آزمونی مورد بررسی قرار گرفت. مشخصات نانو ذرات اکسید روی مورد استفاده در جدول ۱ آمده است.

رنگ آبی ۲۹ (Reactive blue ۲۹) آنیونیک بوده و در آب محلول می‌باشد. مشخصات رنگ آبی ۲۹ در جدول ۲ و ساختار و فرمول شیمیایی آن در شکل ۲ آمده است.

دافنیامگنا بزرگترین نوع دافینا است که اندازه بالغ آن به ۵-۲ میلی‌متر می‌رسد. دافنیامگنا به علت زمان تولید مثل کوتاه، حساسیت بالا، ساده بودن آزمایش و پایین بودن

که هیچ گونه مواجهه‌ای با مواد آلوده کننده نداشته‌اند، امکان‌پذیر می‌باشد (۱۱).

در زیست‌آزمونی از موجودات زیادی نظیر انواع ماهی، جلبک، باکتری و انواع موجودات آب‌های شیرین و دریا مانند دافینا استفاده می‌شود. دو گونه اصلی دافینا، مگنا (Magna) و پولکس (Pulex) هستند. امروزه استفاده از دافنیامگنا به دلیل حساسیت بالا و سهولت استفاده از آن برای پایش پساب خروجی و تعیین راندمان تصفیه‌خانه برای کاهش سمیت در کشورها مختلف پذیرفته شده است (۱۲).

در تحقیقی که از دافنیامگنا، ویبریوفیشری و ریزجلبک‌ها استفاده شده است، نتایج آزمایش‌ها نشان داد از بین این موجودات، دافنیامگنا حساسیت بیشتری به آلاینده‌های محیط دارد (۱۳).

Villegas و همکاران وی در تحقیقی از دافنیامگنا به عنوان شاخص سمیت و بازده تصفیه فاضلاب‌های صنایع نساجی استفاده کردند (۱۴).

یکی از عمده‌ترین آلاینده‌های محیط زیست که در پساب صنایع مختلف از جمله نساجی وجود دارد، رنگ‌ها می‌باشند که در صورت عدم کنترل، سبب آلودگی محیط زیست می‌شوند. رنگ‌ها از نظر ساختمان شیمیایی به رنگ‌های آزو، تری اریل متان آنتراکوئنون، هتروسیکلیک و فتالوسیانین تقسیم شده و بر اساس خصوصیات و روش‌های کاربردی به رنگ‌های راکتیو، دیسپرس، اسیدیک، وات، دایرکت و کاتیونیک تقسیم می‌شوند (۱۵).

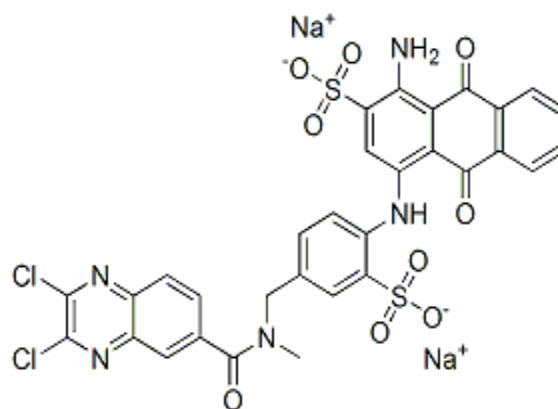
به دلیل عملکرد نامطلوب واحد رنگ‌رزی و ماهیت رنگ‌ها، ۸ تا ۲۰ درصد از رنگ‌های دیسپرس و ۵۰ درصد از رنگ‌های راکتیو به صورت مستقیم وارد جریان فاضلاب می‌شوند (۱۶). رنگ‌های راکتیو ۲۰ تا ۳۰ درصد از رنگ‌های استفاده شده در صنایع نساجی می‌باشند که تجزیه آن‌ها به دلیل داشتن ساختمان آنتراکوئنون بسیار مشکل است (۱۷). یکی از انواع رنگ‌های راکتیو، Reactive blue ۲۹ می‌باشد که علاوه بر صنایع نساجی و رنگ‌رزی در سایر صنایع از قبیل صنایع چرم‌سازی، کاغذسازی و کارخانه‌های تولید رنگ کاربرد دارد. از آن جایی که از نانو ذرات اکسید روی نیز در بسیاری از صنایع

جدول ۱: مشخصات نانو ذرات اکسید روی (۶)

اکسید روی	فرمول شیمیایی
۹۹/۸	خلوص (درصد)
۶-۱۲	اندازه دانه (نانومتر)
۴۰-۱۵۰	سطح ویژه (مترمربع بر گرم)
۱۰۵	چگالی توده (کیلوگرم بر متر مکعب)
بلوری شش وجهی	ساختار کریستالی
متماثل به کره	شکل ذره
توده اسفنجی سبک پودری	شکل ظاهری
سفید متمایل به زرد	رنگ

جدول ۲: مشخصات رنگ آبی ۲۹ (۲۰)

فرمول شیمیایی	C31H19O9N5S2Cl2Na2
نام تجاری	Levafix brilliant blue
نام ژنریک	C.I Reactive Blue 29
ساختار	Anthraquinone
وزن مولکولی (گرم بر مول)	۷۸۶
حداکثر طول موج جذب بر حسب نانومتر	۵۹۶-۵۹۷-۶۰۰



2-Anthracenesulfonic acid, 1-amino-4-[[[4-[[[(2, 3-dichloro-6quinoxalinylyl) carbonyl] methyl amino] methyl]-2-sulfophenyl] amino]-9, 10-dihydro-9, 10-dioxo-, sodium salt; C.I. Reactive Blue 29

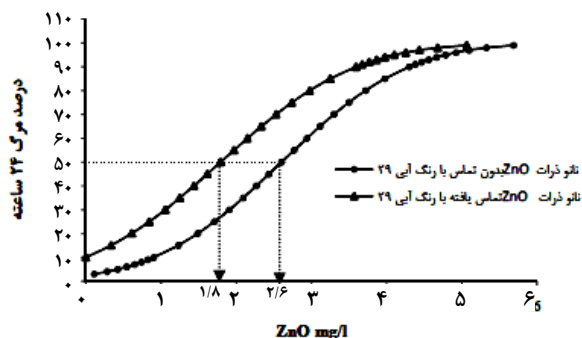
شکل ۲: ساختار و فرمول شیمیایی رنگ آبی ۲۹ (۲۰، ۲۱)

کنترل آلودگی آب جایگاه ویژه‌ای دارد (۲۲). مهم‌ترین مرحله برای زیست آزمونی با دافنیامگنا مرحله نوزادی است که اندازه نوزادان آنها به ۱-۰/۸ میلی‌متر می‌رسد. علت استفاده از نوزاد دافنیا به جای دافنیای بالغ این است که در صورت استفاده از دافنیای بالغ امکان تولید مثل و افزایش تعداد دافنیا در نمونه‌های مورد بررسی وجود داشت، که این امر سبب تداخل در نتایج آزمایش‌ها و عدم قطعیت آن‌ها می‌شد.

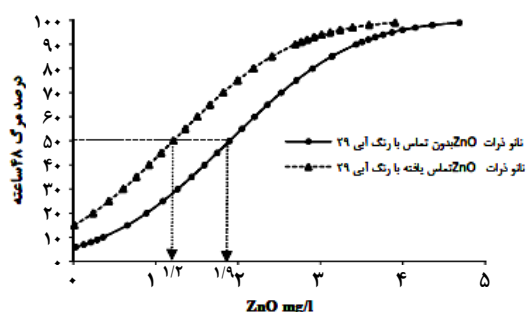
در این مطالعه دافنیامگنا از محیط زندگی طبیعی آن تهیه گردید. جهت تهیه محیط کشت استاندارد، مواد و نوترینت‌های لازم را به آب مقطر اضافه نموده و بر اساس روش‌های استاندارد، محیط کشت مورد نیاز برای کشت دافنیا از ۵ گرم کود خشک، ۲۵ گرم خاک و یک لیتر آب مقطر تهیه شد (۱۲). برای تکثیر دافنیا از ظرف شیشه‌ای دهان گشاد به حجم ۵ لیتر که حاوی ۳ لیتر محیط کشت بود، استفاده شد. محیط کشت دافنیا به صورت هفتگی عوض شد و دافنیاهای مرده از آن خارج گردید و با پمپ هوای آکواریومی و به صورت ملایم هوادهی شد. برای آزمایش از دافنیاهای چند روزه (سه تا چهار روزه) با اندازه یکسان استفاده شد. برای تغذیه دافنیا یک روز بعد از کشت اولیه یک میلی‌گرم مخمر خشک به آب ظرف به طور یک روز در میان اضافه شد. همچنین کنترل دما به طور دایمی با یک دماسنج در داخل محیط کشت انجام می‌گرفت (مناسب‌ترین درجه حرارت برای دافنیامگنا ۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد).

جهت انجام آزمایش سمیت با انجام آزمایش‌های دامنه‌یابی، گستره غلظت‌های مورد نظر به دست آمد و غلظت‌های ۰/۲، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲/۵، ۳، ۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی در آب مقطر تهیه شد. در مرحله بعد جهت انجام زیست آزمونی، نوزادان سه تا چهار روزه دافنیا از محیط کشت جمع‌آوری شده و سه مرتبه در آب رقیق‌سازی و به مدت پنج دقیقه شستشو داده شدند. سپس تعداد ۱۰ عدد دافنیا توسط پیپت در هر یک از ظروف آزمایش رها گردید. تعداد ظروف مورد استفاده در هر یک از آزمایش‌ها یک سری نه تایی بود که یکی از ظروف به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و غلظت نانو ذرات اکسید روی در آن صفر بود (در هر

هزینه‌های آزمایشگاهی و از همه مهم‌تر به دلیل بکرزا بودن) همانندی ژنتیکی که از مهم‌ترین عوامل در اعتبار نتایج به دست آمده از آزمایش‌های زیست آزمونی است؛ در نوزادانی که از یک جنس ماده متولد می‌شوند، وجود دارد) در اقدامات



نمودار ۲: مقایسه درصد کل مرگ دافنیای تماس یافته با نانو ذرات اکسید روی به تنهایی و همراه با رنگ آبی ۲۹ بعد از ۲۴ ساعت



نمودار ۳: مقایسه درصد کل مرگ دافنیای تماس یافته با نانو ذرات اکسید روی به تنهایی و همراه با رنگ آبی ۲۹ بعد از ۴۸ ساعت

بحث

هر چند که اکسید روی در حالت نانو دارای خواص متعددی است، اما به هر حال نانو ذرات اکسید روی دارای اثرات مضر بیشتری بر سلامت انسان و محیط زیست می‌باشند (۲۳). نتایج تحقیقی نشان داده است که استفاده از نانو ذرات اکسید روی در محصولات آرایشی و بهداشتی سبب ایجاد رادیکال‌های آزاد در پوست شده و بنابراین می‌توانند به DNA و پروتئین‌های این سلول‌ها آسیب زده و ممکن است در نهایت منجر به سرطان شوند (۲۴). همچنین این نانو ذرات می‌توانند از لایه‌های حفاظتی بدن عبور کرده و وارد جریان خون شده و سبب اثرات شدید شوند (۲۵، ۲۶).

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که مقدار LC₅₀ ۲۴ ساعته نانو ذرات اکسید روی، ۲/۶ میلی‌گرم در لیتر و مقدار LC₅₀ ۴۸ ساعته نانو ذرات اکسید روی، ۱/۹ میلی‌گرم در لیتر

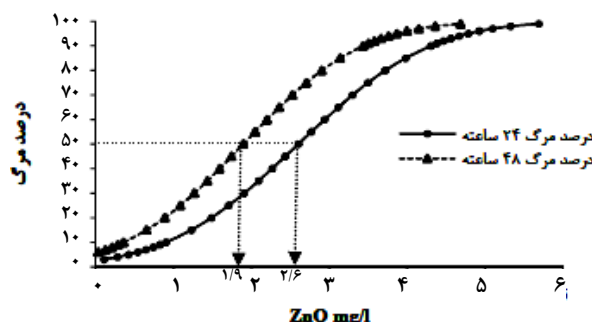
مرحله از آزمایش، یک شاهد نیز برای هر سری به کار برده شد. سپس نتایج (شمارش تعداد دافنیاهای مرده در هر ظرف) به ترتیب بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت ثبت شدند.

در مرحله بعد جهت بررسی سمیت نانو ذرات اکسید روی تماس یافته با رنگ آبی ۲۹، محلول استوک رنگ آبی ۲۹ با غلظت اولیه ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه گردید. سپس مقادیر ۰/۲، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲/۵، ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر از نانو ذرات اکسید روی به محلول رنگ آبی ۲۹ اضافه شد و بدین طریق محلول حاوی نانو ذرات اکسید روی تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ تهیه و سمیت آن همانند روش ذکر شده جهت بررسی سمیت نانو ذرات اکسید روی تعیین شد.

در این مطالعه جهت تعیین میزان مرگ حاصل از نانو ذرات اکسید روی از آنالیز پروبیت نرم‌افزار SPSS_{۱۶} استفاده گردید و بر این اساس مقادیر LC₅₀ در زمان‌های مختلف مشخص شد؛ سپس داده‌های حاصل از آنالیز پروبیت جهت ترسیم نمودارهای مربوط توسط نرم‌افزار Excel مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها

نتایج حاصل از آزمایش‌های انجام شده، در نمودارهای ۱ تا ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که جمعیت دافنیا در طیف گسترده‌ای از غلظت نانو ذرات اکسید روی حساس می‌باشد. همچنین تماس نانو ذرات اکسید روی با رنگ آبی ۲۹ باعث افزایش سمیت نانو ذرات اکسید روی می‌شود و در نتیجه دافنیاهای بیشتری از بین می‌روند.



نمودار ۱: مقایسه درصد کل مرگ دافنیای تماس یافته با نانو ذرات اکسید روی (بدون تماس با رنگ آبی ۲۹) بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت

ذرات اکسید روی بدون تماس با رنگ آبی ۲۹ می‌باشد و در نتیجه رنگ آبی ۲۹ سبب افزایش سمیت نانو ذرات اکسید روی می‌شود که این موضوع توسط Epolito و همکاران نیز به اثبات رسیده است (۱۹).

همچنین محققان در بررسی سمیت نانو ذرات اکسید روی در تماس و بدون تماس با Phenanthrene توسط زیست آزمونی با دافنیا به این نتیجه رسیدند، که مقدار LC₅₀ ۲۴ ساعته و ۴۸ ساعته نانو ذرات اکسید روی بدون تماس با Phenanthrene به ترتیب ۲/۵۸ و ۲/۱۴ میلی‌گرم در لیتر و مقادیر تماس یافته به ترتیب ۱/۵۲ و ۱ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد (۱۸) که نتایج به دست آمده با تحقیق حاضر مشابهت دارد.

بر اساس نتایج حاصل شده، تماس نانو ذرات اکسید روی با رنگ آبی ۲۹، باعث افزایش سمیت نانو ذرات شده و در نتیجه دافنیاهای بیشتری از بین می‌روند. همچنین با افزایش زمان مواجهه، مقدار LC₅₀ کمتر می‌شود که نشان دهنده افزایش تأثیر سمیت نانو ذرات اکسید روی بر روی دافنیامگنا می‌باشد. در نتیجه سمیت نانو ذرات اکسید روی تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ وابسته به زمان تماس با دافنیا می‌باشد.

نتایج حاصل از این تحقیق در مجموع مشخص می‌سازد که زیست آزمونی روشی مناسب برای ارزیابی سمیت نانو ذرات اکسید روی تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ می‌باشد. با توجه به گسترش روز افزون کاربرد نانو ذرات در ایران، یک استراتژی مناسب برای پایش سمیت نانو ذرات اکسید روی در کشور ضروری است که نتایج این تحقیق و تحقیقات مشابه می‌تواند راهگشا باشد.

می‌باشد که این مقادیر با نتایج به دست آمده توسط Wang و همکاران که مقدار LC₅₀ ۲۴ ساعته نانو ذرات اکسید روی را ۲/۳ میلی‌گرم در لیتر به دست آوردند (۲۷) مطابقت می‌کند.

همچنین داده‌های حاصل از این مطالعه با نتایج به دست آمده توسط Wiench و همکاران که اثرات حاد و مزمن نانو ذرات اکسید روی را روی تحرک و تولید مثل دافنیامگنا در آب شیرین مورد بررسی قرارداد و مقدار LC₅₀ ۴۸ ساعته نانو ذرات اکسید روی را ۱ میلی‌گرم در لیتر به دست آوردند (۲۸)، همخوانی دارد.

لازم به ذکر است که مقدار LC₅₀ ۲۴ ساعته نانو ذرات اکسید روی تماس یافته با رنگ آبی ۲۹، ۱/۸ میلی‌گرم در لیتر و مقدار LC₅₀ ۴۸ ساعته نانو ذرات اکسید روی تماس یافته با رنگ آبی ۲۹، ۱/۲ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد.

Heinlaan و همکاران سمیت انواع ترکیبات Zn را بر روی دافنیامگنا مورد بررسی قرار داده و به این نتیجه رسیدند که تمامی ترکیبات Zn دارای سمیت می‌باشند (۴).

مقدار NOEC (غلظتی که در آن هیچ اثری مشاهده نشد) ۲۴ ساعته نانو ذرات اکسید روی بدون تماس و تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ به ترتیب ۰/۹ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر و مقادیر ۴۸ ساعته به ترتیب ۰/۳۶ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. در این مطالعه مقدار NOEC مقادیری بوده که در آن غلظت، کمتر از ۱۰ درصد مرگ مشاهده شده است.

بر اساس نتایج حاصل شده سمیت نانو ذرات اکسید روی با افزایش زمان تماس، افزایش می‌یابد و همچنین سمیت نانو ذرات اکسید روی تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ بیشتر از نانو

References

1. Strunk J, Kahler K, Xia X, Muhler M. The surface chemistry of ZnO nanoparticles applied as heterogeneous catalysts in methanol synthesis. *Surface Science* 2009; 603(10-12): 1776-83.
2. An Q, Xin Y, Huo K, Cai X, Chu PK. Corrosion behavior of ZnO nanosheets on brass substrate in NaCl solutions. *Materials Chemistry and Physics* 2009; 115(1): 439-43.
3. Chakrabarti S, Dutta BK. Photocatalytic degradation of model textile dyes in wastewater using ZnO as semiconductor catalyst. *J Hazard Mater* 2004; 112(3): 269-78.
4. Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, Dubourguier HC, Kahru A. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere* 2008; 71(7): 1308-16.
5. Kamat PS, Huehn R, Nicolaescu R. Semiconductor nanostructures for simultaneous detection and degradation of organic contaminants in water. *J Photochem Photobiol Chem* 2008; 42: 573-7.

6. Masombaigi H, Rezaee A, Nassiri A. Photocatalytic Degradation of Methylene Blue using ZnO Nano- Particles. *Iran J Health & Environ* 2009; 2(3). [In Persian].
7. Jones N, Ray B, Ranjit KT, Manna AC. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiol Lett* 2008; 279(1): 71-6.
8. Mortimer M, Kasemets K, Kahru A. Toxicity of ZnO and CuO nanoparticles to ciliated protozoa *Tetrahymena thermophila*. *Toxicology* 2010; 269(2-3): 182-9.
9. Sun L, Rippon J, Cookson P, Koulaeva O, Wang X. Effects of undoped and manganese-doped zinc oxide nanoparticles on the colour fading of dyed polyester fabrics. *Chemical Engineering Journal* 2009; 147(2-3): 391-8.
10. Martins J, Oliva TL, Vasconcelos V. Assays with *Daphnia magna* and *Danio rerio* as alert systems in aquatic toxicology. *Environ Int* 2007; 33(3): 414-25.
11. Nadafee K. Bioassay with micro organism, review article. *J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci* 1995.
12. U.S.Environmental Protection Agency. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to fresh water and marine organisms [Online]. 2002; Available from: URL: www.water.epa.gov/scitech/methods/cwa/wet/disk2_index.cfm/
13. Fernandez-Alba AR, Hernando D, Aguera A, Caceres J, Malato S. Toxicity assays: a way for evaluating AOPs efficiency. *Water Res* 2002; 36(17): 4255-62.
14. Villegas-Navarro A, Gonzalez MCR, Lopez ER, Aguilar RD, Marcal WS. Evaluation of *Daphnia magna* as an indicator of toxicity and treatment efficacy of textile wastewaters. *Environment International* 1999; 25(5): 619-24.
15. Xu XR, Li HB, Wang WH, Gu JD. Degradation of dyes in aqueous solutions by the Fenton process. *Chemosphere* 2004; 57(7): 595-600.
16. Korbahti BK. Response surface optimization of electrochemical treatment of textile dye wastewater. *J Hazard Mater* 2007; 145(1-2): 277-86.
17. El-Barghouthi M, El-Sheikh A, Al-Degs Y, Walkern G. Adsorption Behavior of Anionic Reactive Dyes on H-type Activated Carbon: Competitive Adsorption and Desorption Studies. *Separation Science and Technology* 2007; 42(10): 2195-220.
18. Naddafi K, Zare MR, Nazmara SH. Investigating potential toxicity of phenanthrene adsorbed to nano-ZnO using *Daphnia magna*. *Toxicological Environmental Chemistry* 2011; 93(4): 729-37.
19. Epolito WJ, Lee YH, Bottomley LA, Pavlostathis SG. Characterization of the textile anthraquinone dye Reactive Blue 4. *Dyes and Pigments* 2005; 67(1): 35-46.
20. Chemicalbook. 2-Anthracenesulfonic acid, 1-amino-4-[[4-[[[(2,3-dichloro- 6 [Online]. 2008; Available from: URL: http://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB51487216_EN.htm/
21. Bianchini R, Pinzino C, Zandomenighi M. Interaction of a reactive dye with serum albumins and with aminoacids: the dye as a chiral label. *Dyes and Pigments* 2002; 55(2GÇ63): 59-68.
22. Eaton AD, Franson MA, American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater*. 21st ed. Washington, DC: American Public Health Association; 2005.
23. Kasemets K, Ivask A, Dubourguier HC, Kahru A. Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO₂ to yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Toxicol in Vitro* 2009; 23(6): 1116-22.
24. Bystrzejewska-Piotrowska G, Golimowski J, Urban PL. Nanoparticles: their potential toxicity, waste and environmental management. *Waste Manag* 2009; 29(9): 2587-95.
25. Lockman PR, Oyewumi MO, Koziara JM, Roder KE, Mumper RJ, Allen DD. Brain uptake of thiamine-coated nanoparticles. *J Control Release* 2003; 93(3): 271-82.
26. Barbu E, Molnar E, Tsibouklis J, Gorecki DC. The potential for nanoparticle-based drug delivery to the brain: overcoming the blood-brain barrier. *Expert Opin Drug Deliv* 2009; 6(6): 553-65.
27. Wang H, Wick RL, Xing B. Toxicity of nanoparticulate and bulk ZnO, Al₂O₃ and TiO₂ to the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environ Pollut* 2009; 157(4): 1171-7.
28. Wiench K, Wohlleben W, Hisgen V, Radke K, Salinas E, Zok S, et al. Acute and chronic effects of nano- and non-nano-scale TiO₂ and ZnO particles on mobility and reproduction of the freshwater invertebrate *Daphnia magna*. *Chemosphere* 2009; 76(10): 1356-65.

Bioassay of Zinc Oxide Nanoparticles Exposed-to Reactive Blue 29 by Using *Daphnia Magna*

***Fatemeh Momeniha*¹, *Kazem Naddafi*², *Mohammad Sadegh Hassanvand*³,
*Ramin Nabizadeh*², *Mohsen Heidari*⁴**

Abstract

Background: The problem of the environmental pollution by nanoparticles, which have recently entered the cycle of industries process in Iran, is very important and can be prevented with applying the proper management approaches. One of the most practical compounds is ZnO nanoparticle. In the present study the (Lethal concentration-50) LC50 24hr and 48hr of ZnO nanoparticles exposed-to reactive blue 29 were determined by bioassay using *Daphnia*

Methods: This study was carried out in lab scale. In the first stage *Daphnia* were cultured. Then desired concentrations were obtained by detection range tests, each concentration was studied for 24 and 48 hours for ZnO nanoparticles and ZnO nanoparticles exposed-to reactive blue 29. Testing method was based on standard methods. The average mortality rate for experiments were analyzed using Probit analysis in SPSS ver. 16, and LC50s were determined. The obtained data from the Probit analysis were used in Excel software to plot graphs.

Findings: The obtained results showed that the LC50-24h and LC50-48h of ZnO nanoparticles exposed-to reactive blue 29 are 1.8 and 1.2 mg/l respectively. ZnO nanoparticles exposed-to reactive blue 29 had more toxicity than ZnO nanoparticles non-exposed-to reactive blue 29.

Conclusion: Based on obtained results, longer exposure time can result in less LC50 value, meaning that the toxicity effect of ZnO nanoparticles on *Daphnia* was higher, therefore, toxicity of ZnO nanoparticles exposed-to reactive blue 29 is dependent upon exposure time to *Daphnia*.

Key words: Toxicity, ZnO Nanoparticles, Reactive Blue29, Bioassay, *Daphnia Magna*

1- MSc, Department of Environmental Health, School of Health and Environmental Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (Corresponding Author) Email: fa.momeniha@gmail.com

2- Associate Professor, Department of Health, Environmental Health and Environmental Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- PhD Candidate, Department of Environmental Health, School of Health and Environmental Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- PhD Candidate, Student Research Committee, Department of Environmental Health, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran