



## مطالعه اثر سمیت نانوذرات نقره کلوئیدی بر ریز جلبک دریایی *Nannochloropsis oculata*

سید علی جوهری<sup>۱\*</sup>، ژیلا قادرسربازی<sup>۱</sup>، ایمان سوری نژاد<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان

<sup>۲</sup>گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی و جوی، دانشگاه هرمزگان

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	به منظور بررسی سمیت حاد نانوذرات نقره کلوئیدی بر ریزجلبک <i>Nannochloropsis oculata</i> ، سلول‌های جلبک به مدت ۷۲ ساعت و بر اساس رهنمود استاندارد شماره ۲۰۱ OECD در معرض غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره قرار گرفتند. شمارش سلول‌های جلبکی هر ۲۴ ساعت انجام شد و متوسط نرخ رشد ویژه و درصد بازدارندگی متوسط رشد ویژه در هر غلظت محاسبه گردید. همچنین مقادیر غلظت‌های بازدارنده (IC) و غلظت بازدارنده میانی (IC <sub>50</sub> ) این نانوماده نیز بر اساس درصد بازدارندگی متوسط رشد ویژه و به وسیله نرم افزار پروبیت محاسبه شد. نتایج نشان داد که نانوذرات نقره حتی در کمترین غلظت مورد بررسی (۰/۰۰۵ میلی‌گرم در لیتر) باعث کاهش رشد ریزجلبک <i>Nannochloropsis</i> می‌شوند. بر این اساس بیشترین غلظت فاقد اثر سمیت (NOEC)، کمترین غلظت ایجاد کننده سمیت (LOEC) و غلظت بازدارنده میانی این نانو ماده برای جلبک مذکور به ترتیب برابر ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۵ و ۰/۰۰۹ ± ۰/۰۳۶ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. با توجه به سیستم هماهنگ جهانی دسته‌بندی و برچسب‌زنی مواد شیمیایی (GHS)، نانوذرات نقره مورد آزمون برای ریزجلبک <i>Nannochloropsis</i> جزو دسته "حاد ۱" یا مواد با سمیت بسیار بالا طبقه‌بندی می‌گردند و هرگونه رهایش تصادفی یا عمدی فاضلاب‌های محتوی آن‌ها به بوم‌سازگان‌های آبی ممکن است باعث ایجاد اثرات غیر قابل جبران به محیط‌زیست آبیان گردد.
تاریخچه مقاله:	
دریافت: ۹۴/۰۸/۰۵	
اصلاح: ۹۵/۰۵/۰۱	
پذیرش: ۹۵/۰۵/۳۰	
کلمات کلیدی:	
ریزجلبک	
سم‌شناسی	
فیتوپلاتون	
نانوذرات نقره	
<i>Nannochloropsis</i>	

### مقدمه

امروزه از نانو مواد به دلیل دارا بودن ویژگی‌های خاص زیستی، مغناطیسی، الکتریکی، شیمیایی، مکانیکی و نوری به طور گسترده استفاده می‌شود (Vanhaecke, 2016). افزایش تولید در مقیاس صنعتی و کاربردهای گوناگون از این مواد باعث انتشار آن‌ها در محیط از طریق زباله‌های شهری، صنعتی و کشاورزی و فاضلاب شده است که ممکن است منجر به ایجاد خطرات زیست محیطی شود (Daughton, 2004; Moore, 2006). با پیشرفت فناوری نانو، استفاده از نانوذرات نقره نیز به دلیل ویژگی‌های خوب ضد باکتری، ضد ویروس و ضد قارچی در صنایع مختلف افزایش یافته است و ورود این نانوماده از طریق پساب‌های صنایع مختلف به بوم‌سازگان‌های آبی، ضرورت بررسی تأثیر آن بر آبیان مختلف و به‌ویژه بر پلانکتون‌های گیاهی به عنوان اولین سطح زنجیره غذایی

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [a. Johari@uok.ac.ir](mailto:a. Johari@uok.ac.ir)

را بسیار با اهمیت ساخته است (Navarro *et al.*, 2008). پلانکتون‌های گیاهی علاوه بر اهمیت در زنجیره غذایی آبزیان، نقش مهمی در تولید اکسیژن و همچنین در پاک‌سازی آب‌های آلوده دارند. به‌علاوه از پلانکتون‌های گیاهی به عنوان موجودات مدل در بررسی سمیت مواد شیمیایی مختلف و از جمله نانومواد استفاده می‌شود (Worms *et al.*, 2012; Roy *et al.*, 2016). ریز جلبک *Nannochloropsis oculata* از شاخه‌ی Heterokontophyta، رده‌ی Eustigmatophyceae و خانواده‌ی Eustigmataceae می‌باشد و این جنس دارای پنج گونه‌ی دیگر نیز می‌باشد (Hibberd, 1981). گرچه گونه‌های این جنس اغلب در محیط‌های دریایی یافت می‌شوند اما در محیط‌های آب شیرین و لب شور نیز یافت شده‌اند (Fawley and Fawley, 2007). تمام گونه‌های این جنس تک سلولی و کوچک بوده (قطر ۲ تا ۴ میکرون) و غیر متحرک هستند (Hibberd, 1981). *Nannochloropsis* اغلب به عنوان غذای Rotifer و همچنین به منظور ایجاد شرایط مطلوب محیطی در تانک‌های لاروی، در کارگاه‌های تکثیر و پرورش آبزیان نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (Fulks and Main, 1991; Lubzens *et al.*, 1995).

بر اساس جستجوهای انجام شده به نظر می‌رسد که اطلاعات بسیار محدودی در مورد اثر نانوذرات نقره بر ریزجلبک‌های آب شور در دسترس باشد. به عنوان نمونه He و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که نانوذرات نقره در غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر برای *Chattonella marina* سمی می‌باشند. Oukarroum و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ به بررسی اثر نانوذرات نقره ۵۰ نانومتری بر یک گونه ریز جلبک آب شیرین (*Chlorella vulgaris*) و یک گونه ریز جلبک آب شور (*Dunaliella tertiolecta*) پرداختند و نشان دادند که این نانوذرات باعث کاهش شدید محتوای کلروفیل و زنده‌مانی سلول‌ها و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن ( $ROS^1$ ) و پراکسیداسیون چربی‌ها می‌شوند. در مطالعه‌ی دیگری نیز Hazani و همکاران در سال ۲۰۱۳ به بررسی اثر نانوذرات نقره بر گونه آب شیرین *C. vulgaris* و گونه آب شور *D. tertiolecta* پرداختند و نشان دادند که در غلظت‌های بالا (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، نانوذرات نقره باعث مرگ سلولی و ایجاد استرس اکسیداتیو در پلانکتون‌های مورد بررسی می‌شوند. همچنین این پژوهشگران نشان دادند که حساسیت گونه‌ی آب شور مورد بررسی نسبت به گونه‌ی آب شیرین بالاتر بود که علت آن به عدم وجود دیواره سلولی در جلبک آب شور مورد بررسی نسبت داده شده است (Hazani *et al.*, 2013). در مقابل در یک پژوهش دیگر نشان داده شد که مقاومت ریزجلبک آب شور *Phaeodactylum tricornutum* نسبت به نانوذرات نقره بسیار بالاتر از ریزجلبک آب شیرین *Pseudokirchneriella subcapitata* می‌باشد (Angel *et al.*, 2013).

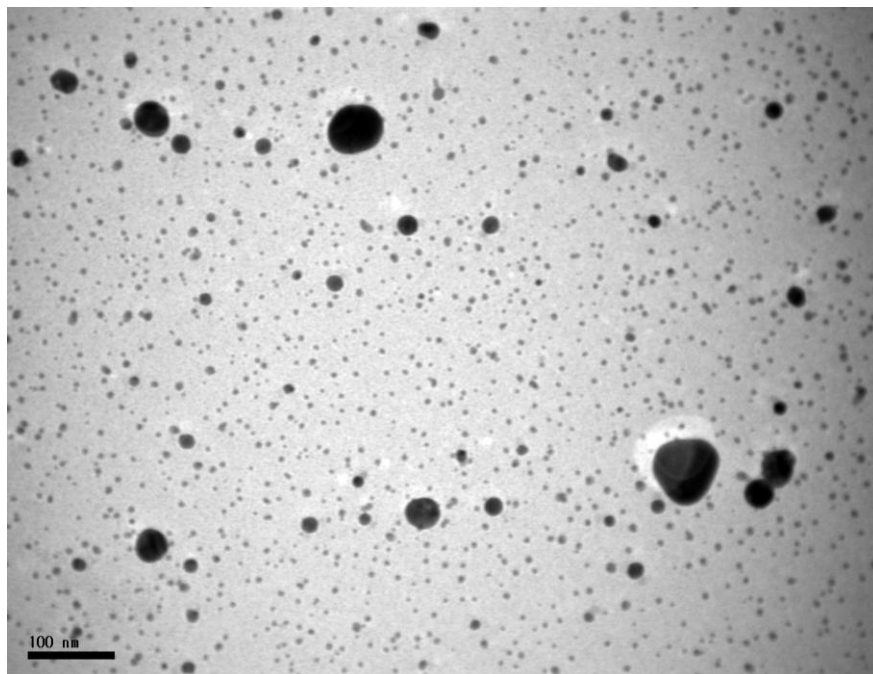
با توجه به محدود بودن اطلاعات در این رابطه، هدف مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر نانوذرات نقره‌ی کلئیدی بر ریز جلبک *Nannochloropsis oculata* به عنوان یک پلانکتون گیاهی دریایی و یک ریزجلبک مهم از نظر آبی‌پروری می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش از کلئید نانوذرات نقره ساخت شرکت نانوصب‌پارس با نام تجاری نانوسید L2000 استفاده گردید. ویژگی‌های این کلئید در مطالعات Asghari و همکاران (۲۰۱۲) و Johari و همکاران (۲۰۱۳) به طور کامل مورد سنجش قرار گرفته و گزارش شده است. بر اساس نتایج مطالعات مذکور، به طور خلاصه، کلئید مورد استفاده حاوی نانوذرات نقره با غلظت ۳۹۸۰ میلی‌گرم در لیتر، میانگین ( $\pm SD$ ) پتانسیل زتا<sup>۲</sup>  $7/86 \pm 53/33$  میلی‌ولت و pH ۲/۴ بود. همچنین میانگین قطر هیدرودینامیک نانوذرات نقره در کلئید مذکور ۵۴/۸ نانومتر و میانگین هندسی قطر ذرات بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) ۱۲/۶۵ نانومتر می‌باشد (شکل ۱).

<sup>1</sup> Reactive oxygen species

<sup>2</sup> Zeta potential



شکل ۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی نانوذرات نقره مورد استفاده در این مطالعه (برگرفته از Asghari et al., 2012).

به طور کلی در این پژوهش آزمون‌های سم‌شناسی حاد به مدت ۷۲ ساعت و بر اساس رهنمود استاندارد شماره ۲۰۱ "سازمان توسعه و همکاری اقتصادی" انجام شد (OECD, 2011). اما از آنجا که محیط‌های کشت و شرایط کشت جلبک در استاندارد مذکور برای جلبک‌های آب شیرین طراحی گردیده است، در پژوهش حاضر برای کشت جلبک *Nannochloropsis*، استاندارد فوق با توجه به روش استاندارد موجود برای کشت جلبک‌های آب شور تعدیل گردید (Lavens and Sorgeloos, 1996). بنابر این و به طور خلاصه از محیط کشت والنه<sup>۳</sup> و آب استریل شده با شوری ۳۵ قسمت در هزار برای کشت سلول‌های جلبکی استفاده شد. همچنین در طی انجام آزمایشات، روشنایی کامل (۲۴ ساعته) با استفاده از ۶ عدد لامپ فلورسنت (۳ عدد مهتابی و ۳ عدد آفتابی) برقرار و میانگین دمای آب  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد بود. تمام آزمایشات در ارلن‌های ۲ لیتری انجام گرفت و برای تلقیح هر لیتر محیط کشت، از ۵ میلی‌لیتر نمونه خالص و غلیظ جلبک *Nannochloropsis* استفاده شد. به طوری که در شروع هر آزمایش تراکم اولیه سلول‌های جلبکی ۲۰ تا ۲۴ عدد در میلی‌لیتر بود.

برای بررسی سمیت حاد نانوذرات نقره در جلبک *Nannochloropsis* پس از انجام چند آزمایش اولیه برای یافتن محدوده اثر این نانوماده، سلول‌های جلبکی به مدت ۷۲ ساعت و در سه تکرار در معرض ۱۰ غلظت شامل ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۷، ۰/۰۰۹، ۰/۰۱۳، ۰/۰۱۹، ۰/۰۲۶، ۰/۰۳۷، ۰/۰۵۲، ۰/۰۷۳ و ۰/۱۰۳ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به همراه گروه شاهد (آب فاقد نانوذرات) قرار گرفتند.

نمونه‌برداری از سلول‌های جلبکی در معرض غلظت‌های مختلف نانوذرات و گروه‌های شاهد هر ۲۴ ساعت یک‌بار انجام شد. در تمام مراحل، برای تعیین زی‌توده سلول‌های جلبکی از هر ارلن ۳ بار و هر بار ۱۰۰ میکرولیتر نمونه برداشته شد و شمارش سلول‌ها با استفاده از لام هموسیتومتر (نتوبار) انجام گرفت. در مرحله بعد متوسط نرخ رشد ویژه از زمان  $t_0$  تا زمان  $t_1$  ( $\mu_{t_1-t_0}$ ) با استفاده از رابطه ۱ به دست آمد، که در آن  $t_0$  زمان شروع دوره‌ی در معرض‌گذاری،  $t_1$  زمان پایان دوره‌ی در معرض‌گذاری است،  $C_0$  زی‌توده جلبک در

<sup>3</sup> Walne's medium

زمان  $i$  و  $j$  زی‌توده جلبک در زمان  $t$  است. همچنین درصد بازدارندگی متوسط رشد ویژه ( $I_r$ ) با استفاده از رابطه ۲ به دست آمد که در آن مقدار متوسط نرخ رشد ویژه در گروه شاهد و  $\mu_t$  مقدار متوسط نرخ رشد ویژه در هر یک از گروه‌های در معرض نانوذرات نقره بعد از ۷۲ ساعت است.

$$\mu_{i-j} = \frac{(\ln C_j - \ln C_i)}{t_j - t_i} \quad (\text{رابطه ۱})$$

$$I_r = \left\{ \frac{(\mu_c - \mu_t)}{\mu_c} \right\} \times 100 \quad (\text{رابطه ۲})$$

مقادیر غلظت‌های بازدارنده (IC) و غلظت بازدارنده میانی ( $IC_{50}$ ) نیز بر اساس درصد بازدارندگی متوسط رشد ویژه در غلظت‌های مختلف و با استفاده از نسخه ۱/۵ نرم افزار EPA Probit Analysis (منتشر شده توسط سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا) محاسبه شد.

## نتایج

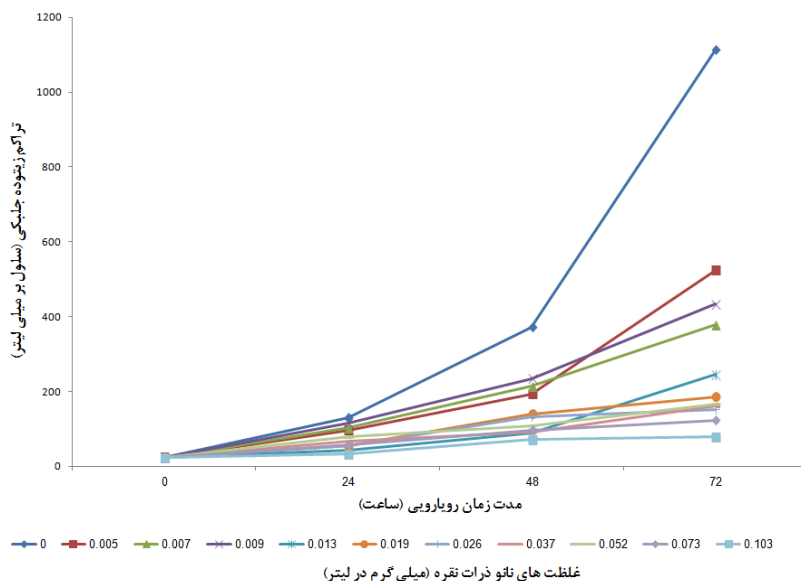
منحنی رشد جلبک *Nannochloropsis* طی زمان‌های مختلف و در غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره در شکل ۲ نشان داده شده است. بر این اساس، بعد از ۷۲ ساعت کشت، تراکم سلول‌های جلبک *Nannochloropsis* در گروه شاهد بیش از ۴۹ برابر افزایش یافت و از حدود ۲۲ سلول در میلی‌لیتر به بیش از ۱۱۰۰ سلول در میلی‌لیتر رسید. در مقابل در گروه‌هایی که در معرض غلظت‌های ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۷، ۰/۰۰۹، ۰/۰۱۳، ۰/۰۱۹، ۰/۰۲۶، ۰/۰۳۷، ۰/۰۵۲، ۰/۰۷۳ و ۰/۱۰۳ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره بودند، افزایش تراکم سلول‌های جلبکی پس از ۷۲ ساعت نسبت به شروع آزمایشات به ترتیب حدود ۲۳، ۱۹، ۱۷، ۱۰، ۸، ۷، ۷، ۵ و ۳ برابر افزایش یافت که نشان‌دهنده کاهش رشد جلبک *Nannochloropsis* در رویارویی با نانوذرات نقره است. درصد بازدارندگی متوسط رشد ویژه جلبک *Nannochloropsis* پس از ۷۲ ساعت رویارویی با غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره در شکل ۳ نشان داده شده است. بر این اساس، در بالاترین غلظت مورد بررسی، نانوذرات نقره باعث بازدارندگی متوسط رشد ویژه این جلبک به میزان بیش از ۶۸ درصد گردیده اند.

بر اساس بررسی داده‌های آزمایشات اولیه و اصلی، بیشترین غلظت فاقد اثر سمیت ( $NOEC^4$ ) و کمترین غلظت ایجاد کننده سمیت ( $LOEC^5$ ) نانوذرات نقره برای جلبک *Nannochloropsis* طی ۷۲ ساعت، به ترتیب برابر ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۵ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. همچنین بر اساس بررسی داده‌های مربوط به درصد بازدارندگی متوسط رشد ویژه در غلظت‌های مختلف با استفاده از نرم افزار پروبیت (جدول ۱)، حداکثر غلظت قابل قبول ( $MATC^6$ ) نانوذرات نقره برای جلبک مذکور، برابر ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر محاسبه گردید. بر همین اساس غلظت بازدارنده میانی ( $IC_{50}$ ) نانوذرات نقره طی ۷۲ ساعت برای جلبک *Nannochloropsis* به میزان  $0/009 \pm 0/036$  میلی‌گرم در لیتر برآورد گردید.

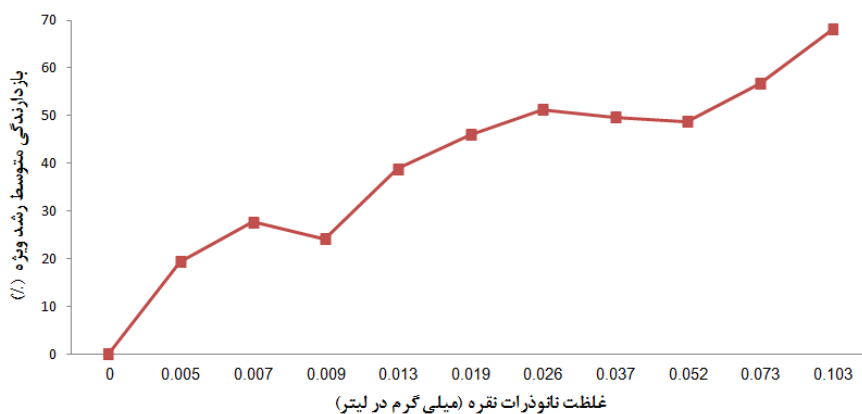
<sup>4</sup> No Observable Effect Concentration

<sup>5</sup> Lowest Observable Effect Concentration

<sup>6</sup> Maximum Acceptable Toxicant Concentration



شکل ۲. منحنی رشد ریز جلبک *N. oculata* طی ۷۲ ساعت رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره.



شکل ۳. درصد بازدارندگی متوسط رشد ویژه ریز جلبک *N. oculata* پس از ۷۲ ساعت رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره.

جدول ۱. مقادیر غلظت‌های بازدارنده (IC) ۷۲ ساعته نانو ذرات نقره و حدود اطمینان مربوط به هر یک از آن‌ها در ریز جلبک *N. oculata*.

حدود اطمینان (۰.۹۵) (میلی گرم در لیتر)		غلظت (میلی گرم در لیتر)	غلظت‌های مؤثره
حد بالا	حد پایین		
۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	IC <sub>1</sub>
۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	IC <sub>5</sub>
۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	IC <sub>10</sub>
۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	IC <sub>15</sub>
۰/۰۴۷	۰/۰۲۹	۰/۰۳۶	IC <sub>50</sub>
۱/۳۷۵	۰/۳۰۰	۰/۵۴۷	IC <sub>85</sub>
۳/۱۱۵	۰/۵۱۱	۱/۰۴۱	IC <sub>90</sub>
۱۰/۴۹۰	۱/۱۲۱	۲/۶۹۴	IC <sub>95</sub>
۱۰۲/۷۰۹	۴/۸۶۸	۱۶/۰۴۸	IC <sub>99</sub>

## بحث

رهنمود استاندارد شماره ۲۰۱ "سازمان توسعه و همکاری اقتصادی" بیان می‌دارد که در آزمون‌های سم‌شناسی حاد بر روی جلبک‌های تک سلولی، تعداد سلول‌ها در گروه شاهد طی ۷۲ ساعت باید حداقل ۱۶ برابر افزایش یابد (OECD, 2011). بر این اساس، افزایش نزدیک به ۵۰ برابری زی‌توده‌ی جلبکی در پژوهش حاضر نشان می‌دهد کشت در شرایط استاندارد انجام شده است و سلول‌های جلبکی نیز از توانایی کافی برای رشد و تکثیر برخوردار بوده‌اند.

با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، نانوذرات نقره حتی در کم‌ترین غلظت مورد آزمون نیز باعث ایجاد سمیت در ریزجلبک دریایی *Nannochloropsis* گردیده‌اند و در واقع حضور این نانوذرات در محیط کشت جلبک مذکور مانع تقسیم سلولی و افزایش عادی تعداد سلول‌ها گردیده است. همچنین بر اساس نتایج به دست آمده، با افزایش هرچه بیشتر غلظت نانوذرات نقره در محیط کشت، کاهش رشد جلبک‌ها نیز بیش‌تر قابل مشاهده بوده است که نشان می‌دهد تأثیر این نانوذرات بر ریزجلبک مورد مطالعه وابسته به غلظت است. از طرفی با گذر زمان، اختلاف رشد جلبک‌های گروه شاهد با گروه‌های تحت تیمار نانوذرات نقره بیشتر قابل مشاهده است که نشان دهنده‌ی تأثیر وابسته به زمان نانوذرات نقره بر جلبک *Nannochloropsis* است.

مطالعات موجود در مورد اثر نانومواد بر ریزجلبک‌ها نشان می‌دهد که بیش از آن‌که نانوذرات نقره به طور مستقیم باعث ایجاد سمیت در ریزجلبک‌های آب شور و شیرین شوند، ساز و کار اصلی ایجاد سمیت نانوذرات نقره در این دسته از آبزیان، انحلال تدریجی یون‌های نقره ( $Ag^+$ ) از این نانوذرات به محیط پیرامون است (Navarro et al., 2008; Miao et al., 2009; He et al., 2012). البته از آن‌جا که قطر منافذ موجود در دیواره سلولی ریزجلبک‌ها بین ۵ تا ۲۰ نانومتر است (Navarro et al., 2008; Surendhiran and Vijay, 2014)، احتمال عبور نانوذرات از این منافذ و ورود آن‌ها به داخل سلول و تأثیر مستقیم آن‌ها بر اندامک‌های داخل سلولی نیز دور از ذهن نمی‌باشد. نشان داده شده است که یون‌های نقره و نانوذرات نقره به ترتیب باعث آسیب زدن به فتوسنتز و چرخه کلونین (Pillai et al., 2014) و جلوگیری از واکنش‌های فتوشیمیایی فتوسنتز (Dewez and Ouakroum, 2012) در ریزجلبک آب شیرین *Chlamydomonas reinhardtii* می‌شوند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که غلظت بازدارنده میان‌ی نانوذرات نقره طی ۷۲ ساعت برای جلبک *Nannochloropsis oculata* در آب با شوری ۳۵ گرم در لیتر، ۰/۰۳۶ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. بر اساس نتایج مطالعه Sohn و همکاران (۲۰۱۵)، غلظت بازدارنده میان‌ی نانوذرات نقره طی همین زمان برای جلبک *Raphidocelis subcapitata* در آب شیرین ۰/۷۴ میلی‌گرم در لیتر برآورد گردیده است. مقایسه این اعداد نشان می‌دهد که ظاهراً سمیت نانوذرات نقره در آب شور بالاتر از آب شیرین بوده است. یک علت این اختلاف می‌تواند تفاوت‌های ذاتی بین این دو گونه ریزجلبک (مثل تفاوت در ساختار و ترکیبات دیواره سلولی) و همچنین تفاوت بین انواع نانوذرات نقره مورد بررسی در این دو مطالعه (مثل تفاوت اندازه و بار الکتریکی ذرات) باشد. از طرفی علت احتمالی دیگر این است که با افزایش شوری آب، سرعت رهاش یون‌های نقره از نانوذرات نقره افزایش می‌یابد (Angel et al., 2013) و همان‌طور که پیش‌تر ذکر شد، این یون‌ها عامل اصلی ایجاد سمیت در ریزجلبک‌ها هستند و هرچه غلظت آن‌ها در محیط بیشتر باشد، اثرات سمی بیش‌تری نیز قابل مشاهده است. البته این موضوع از نظر واکنش‌های شیمیایی بسیار پیچیده می‌باشد؛ به عنوان مثال با افزایش شوری، غلظت یون‌های کلر نیز در آب افزایش می‌یابد که این یون‌ها با یون‌های نقره رها شده از نانوذرات نقره واکنش داده و تشکیل کمپلکس‌های مختلف Ag-Cl می‌دهند که میزان دسترسی زیستی و سمیت هر یک از این کمپلکس‌ها متفاوت می‌باشد (Miao et al., 2009; Salari Joo et al., 2013). همچنین نشان داده شده است که عوامل محیطی مختلف همچون اسیدیته، شوری، مواد آلی محلول در آب و غیره بر سمیت مواد شیمیایی مختلف و از جمله نانومواد تأثیرگذار می‌باشند (Lapresta-Fernández et al., 2012). در مطالعه دیگری نشان داده شد که نانوذرات نقره اثر متفاوتی بر کشت‌های قدیمی یا جدید ریزجلبک آب شیرین *C. reinhardtii* می‌گذارند، به‌طوری‌که این نانوذرات در غلظت ۴۶ میکرومولار رشد ریزجلبک‌های تازه کشت داده شده را متوقف ساختند، ولی بر کشت‌های قدیمی تأثیری نداشتند (Stevenson et al., 2013). همچنین نشان داده شده است

که پوشش متفاوت نانوذرات نقره، باعث تأثیر متفاوت آن‌ها بر رشد ریزجلبک آب شیرین *C. reinhardtii* (Navarro et al., 2012) و *Pseudokirchneriella subcapitata* (Tuominen et al., 2013) می‌شود. بنابراین توجه به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانومواد مختلف (همچون نوع پوشش، شکل، اندازه، بار الکتریکی، ساختار بلورین و ...) در زمان آزمون سمیت آن‌ها کاملاً ضروری به نظر می‌رسد و لازم است سمیت هر نانوماده به صورت مجزا از دیگری مورد بررسی قرار گیرد. با توجه به نتایج غلظت بازدارنده میانی در این مطالعه و بر اساس سیستم هماهنگ جهانی دسته‌بندی و برچسب‌زنی مواد شیمیایی<sup>7</sup> (GHS, 2011)، نانوذرات نقره مورد آزمون برای ریزجلبک *Nannochloropsis* جزو دسته "حاد ۱" یا مواد با سمیت بسیار بالا طبقه‌بندی می‌گردند. بر این اساس هرگونه رهائش تصادفی یا عمدی فاضلاب‌های محتوی این نانوماده به بوم‌سازگان‌های آبی ممکن است باعث ایجاد اثرات غیر قابل جبران به محیط‌زیست آبریان گردد. بنابراین تصفیه پساب‌های محتوی نانوذرات نقره پیش از تخلیه به محیط‌زیست ضروری به نظر می‌رسد.

### تشکر و قدردانی

هزینه‌های انجام این پژوهش از محل اعتبار ویژه پژوهشی (گرنٹ شماره ۴/۱۴۴۲۳) پرداختی از سوی معاونت پژوهشی دانشگاه کردستان به دکتر سید علی جوهری تأمین شده است.

### منابع

- Angel, B.M., Batley, G.E., Jarolimek, C.V., Rogers, N.J. 2013. The impact of size on the fate and toxicity of nanoparticulate silver in aquatic systems. *Chemosphere*. 93(2): 359-365.
- Asghari, S., Johari, S.A., Lee, J.H., Kim, Y.S., Jeon, Y.B., Choi, H.J., Moon, M.C., Yu, I.J. 2012. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna*. *Journal of Nanobiotechnology*. 10: 1-14.
- Daughton, C.G. 2004. Non-regulated water contaminants: emerging research. *Environmental Impact Assessment Review*. 24: 711-732.
- Dewez, D., Oukarroum, A. 2012. Silver nanoparticles toxicity effect on photosystem II photochemistry of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* treated in light and dark conditions. *Toxicological & Environmental Chemistry*. 94(8): 1536-1546.
- Fawley, K.P., Fawley, M.W. 2007. Observations on the diversity and ecology of freshwater *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae), with descriptions of new taxa. *Protist*. 158(3): 325-336.
- Fulks, W., Main, K.L. 1991. Rotifer and microalgae culture systems. *Proceedings of a U.S.-Asia Workshop*. The Oceanic Institute, Honolulu, Hawaii, USA. 364 p.
- GHS, Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals, United Nations Publications, New York, NY, USA, 4th edition. 2011.
- Hazani, A.A., Ibrahim, M.M., Shehata, A.I., El-Gaaly, G.A., Daoud, M., Fouad, D., Rizwana, H., Moubayed, N.M.S. 2013. Ecotoxicity of Ag-nanoparticles on two microalgae, *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta*. *Archives of Biological Sciences*. 65(4): 1447-1457.
- He, D., Dorantes-Aranda, J.J., Waite, T.D. 2012. Silver nanoparticle-algae interactions: Oxidative dissolution, reactive oxygen species generation and synergistic toxic effects. *Environmental Science and Technology*. 46(16): 8731- 8738.
- Hibberd, D.J. 1981. Notes on the taxonomy and nomenclature of the algal classes Eustigmatophyceae and Tribophyceae (*Synonym Xanthophyceae*). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 82(2): 93-119.
- Johari, S.A., Kalbassi, M.R., Soltani, M., Yu, I.J. 2013. Toxicity comparison of colloidal silver nanoparticles in various life stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 12(1): 76-95.

<sup>7</sup> Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals

- Lavens, P., Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper, No. 361. Rome, FAO. 295 p.
- Lapresta-Fernández, A., Fernández, A., Blasco, J. 2012. Nanoecotoxicity effects of engineered silver and gold nanoparticles in aquatic organisms. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 32: 40-59.
- Lubzens, E., Gibson, O., Zmora, O., Sukenik, A. 1995. Potential advantages of frozen algae (*Nannochloropsis* sp.) for rotifer (*Brachionus plicatilis*) culture. *Aquaculture*. 133(3-4): 295-309.
- Miao, A.J., Schwehr, K.A., Xu, C., Zhang, S.J., Luo, Z., Quigg, A., Santschi, P.H. 2009. The algal toxicity of silver engineered nanoparticles and detoxification by exopolymeric substances. *Environmental Pollution*. 157: 3034-3041.
- Moore, M.N. 2006. Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environment International*. 32(8): 967-976.
- Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., Sigg, L., Behra, R. 2008. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science and Technology*. 42(23): 8959-8964.
- Navarro, E., Wagner, B., Odzak, N., Sigg, L., Behra, R. 2012. Assessing ionic availability to algae from different coated silver nanoparticles. In: NanoSpain Conference, February 27-March 1, Santander, Spain.
- OECD, 2011. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, France.
- Oukarroum, A., Bras, S., Perreault, F., Popovic, R. 2012. Inhibitory effects of silver nanoparticles in two green algae, *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 78: 80-85.
- Pillai, S., Behra, R., Nestler, H., Suster, M.J.F., Sigg, L., Schirmer, K. 2014. Linking toxicity and adaptative responses across the transcriptome, proteome, and phenotype of *Chlamydomonas reinhardtii* exposed to silver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 111(9): 3490-3495.
- Roy, R., Parashar, A., Bhuvaneshwari, M., Chandrasekaran, N., Mukherjee, A. 2016. Differential effects of P25 TiO<sub>2</sub> nanoparticles on freshwater green microalgae: *Chlorella* and *Scenedesmus* species. *Aquatic Toxicology*. 176: 161-171.
- Salari, Joo, H., Kalbassi, M.R., Yu, I.J., Lee, J.H., Johari, S.A. 2013. Bioaccumulation of silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): influence of concentration and salinity. *Aquatic Toxicology*. 140-141: 398-406.
- Sohn, E.K., Johari, S.A., Kim, T.G., Kim, J.K., Kim, E., Lee, J.H., Chung, Y.S., Yu, I.J. 2015. Aquatic toxicity comparison of silver nanoparticles and silver nanowires. *BioMed Research International*. 893049: 1-12.
- Stevenson, L.M., Dickson, H., Klanjscek, T., Keller, A.A., McCauley, E., Nisbet, R.M. 2013. Environmental feedbacks and engineered nanoparticles: mitigation of silver nanoparticle toxicity to *Chlamydomonas reinhardtii* by algal-produced organic compounds. *PLOS ONE*. 8(9): e77456.
- Surendhiran, D., Vijay, M. 2014. Effect of various pretreatment for extracting intracellular lipid from *Nannochloropsis oculata* under nitrogen replete and depleted conditions. *ISRN Chemical Engineering*. 536310: 1-9.
- Tuominen, M., Sillanpaa, M., Schultz, E. 2013. Toxicity and stability of silver nanoparticles to the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata* in boreal freshwater samples and growth alga. *Nanomaterials and the Environment*. 1: 48-57.
- Vanhaecke, F. 2016. Nanoecotoxicology: Nanoparticle behaviour dissected. *Nature Nanotechnology*. 11(8): 656-657.
- Worms, I.A., Boltzman, J., Garcia, M., Slaveykova, V.I. 2012. Cell-wall-dependent effect of carboxyl-CdSe/ZnS quantum dots on lead and copper availability to green microalgae. *Environmental Pollution*. 167: 27-33.