مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

سمیت نانوپلاستیک پلی استایرن ($PS\text{-}NH_2^+$) بر ریزجلبک *Chlorella vulgaris*

طاهره بامری، ابوالفضل ناجی*، آرش اکبرزاده

گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۷/۰۷/۰۳
اصلاح: ۹۷/۱۰/۰۸
پذیرش: ۹۹/۰۲/۱۰

کلمات کلیدی:
آلودگی پلاستیکی
آنتی‌اکسیدان
زنجیره غذایی
کلروفیل *a*

چکیده

به دلیل استفاده گسترده نانوپلاستیک‌ها در کاربری‌های مختلف از قبیل بیوسنسورها، فونیک‌ها، نانوکمپوزیت‌ها و غیره و افزایش بی‌رویه خرده زباله‌های پلاستیکی در محیط‌های آبی، نگرانی‌ها در مورد اثرات بالقوه این مواد بر ریزجلبک‌ها افزایش یافته است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات غلظت‌های مختلف (۰/۲۵، ۲/۵، ۲۵ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر) ذرات نانوپلی استایرن ($PS\text{-}NH_2^+$) پس از ۹۶ ساعت بر رشد، محتوای کلروفیل *a* و میزان تولید آنتی‌اکسیدان ریزجلبک *Chlorella vulgaris* بود. میزان رشد (از طریق شمارش سلولی) و محتوای کلروفیل *a* و میزان آنتی‌اکسیدان (از طریق اندازه‌گیری میزان جذب نوری) سنجیده شد. با افزایش غلظت نانوپلاستیک و مدت زمان در معرض قرار گرفتن (۱۲ روز)، رشد و محتوای کلروفیل *a* نسبت به گروه شاهد روند کاهشی نشان داد. همچنین نتایج نشان داد که مقادیر تولید آنتی‌اکسیدان در نمونه‌هایی که در معرض نانو پلی استایرن قرار گرفتند بیشتر از نمونه‌های شاهد بود. در نهایت مشخص گردید که این نانوذره در دراز مدت باعث آسیب‌های جدی بر *C. vulgaris* می‌شود و قادر است مکانیسم‌های سلولی را تحت تأثیر قرار دهد.

مقدمــه

امروزه زباله‌های پلاستیکی در سطح جهان به عنوان یک تهدید برای اکوسیستم‌های دریایی شناخته شده‌اند (Andrady, 2011; Eriksen *et al*., 2013)؛ چرا که شمار زیادی از گونه‌های دریایی سالانه توسط این زباله‌ها تحت تأثیر قرار گرفته و دچار آسیب و خسارت می‌شوند (Derraik, 2002). سالانه بالغ بر ۳۰۰ میلیون تن پلاستیک در سطح جهان تولید و مصرف می‌شود (Andrady and Neal, 2009). همین امر موجب شده است که محصولات پلاستیکی از طرق مختلف به اقیانوس ریخته شوند و ۸۰-۶۰ درصد از زباله‌های دریایی را تشکیل دهند (Kaposi *et al*., 2014; Setälä *et al*., 2014). ارزیابی اثرات کوچک‌ترین زباله‌های پلاستیکی که به عنوان نانوذرات (<۱۰۰nm) شناخته شده‌اند (Hartmann *et al*., 2015) برای درک کامل اهمیت این تهدید نوظهور برای محیط‌زیست دریایی به کار گرفته شده است (Derraik, 2002; Eriksen *et al*., 2013).

در واقع، پلاستیک یک اصطلاح کلی است که به یک خانواده از پلیمرهای آلی که از منابع نفتی، از جمله پلی وینیل کلرید (PVC)، نایلون، پلی اتیلن (PE)، پلی استایرن (PS) و پلی پروپیلن (PP) مشتق شده‌اند، اشاره دارد (Vert *et al*., 2012). یکی از بیش‌ترین پلیمرهای تولیدی پلی استایرن است (Lithner *et al*., 2011) که برای چندین سال در محیط زیست باقی‌مانده و

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Abolfazlnaji@gmail.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.2.5.3]

به ندرت دچار دپلیمریزاسیون در آب‌های دریایی می‌شود (Gregory, 2003)، بنابراین منجر به تشکیل خرده‌های کوچک (نانو) می‌شود (Bandyopadhyay and Basak, 2007; Hofer, 2008). در نتیجه این پلیمرها رایج‌ترین پلاستیک‌هایی هستند که در محیط به ویژه در محیط آبی یافت شده‌اند. ذرات پلاستیکی از مناطق داخل شهری از طریق سیستم‌های زهکشی سطحی و هم‌چنین به طور مستقیم از فعالیت‌های انسانی مانند: ماهیگیری، تخلیه ناشی از حمل و نقل کشتی‌ها و رهاسازی عمدی و تصادفی فاضلاب خانگی، کشاورزی، صنعتی و پساب فاضلاب به اقیانوس می‌رسند (Andrady, 2011) که موجب نگرانی‌های قابل‌توجهی در مورد آلودگی نانوپلاستیک‌ها و همچنین تهدید جدی‌تری نسبت به پلاستیک‌های بزرگ‌تر برای موجودات زنده دریایی شده‌اند زیرا کاهش اندازه نانوپلاستیک‌ها باعث می‌شود که آن‌ها مستعد مصرف توسط موجوداتی که پایه زنجیره غذایی هستند، شوند. علاوه براین، مساحت سطحی بالا نسبت به حجم آن‌ها باعث شده حامل آلاینده‌های دیگر مانند POPs، PAHs و فلزات جزئی (Cu، Cd، Ag و...) باشند که این تمایل موجب پدیده تجمع زیستی (Bioaccumulation) و تشدید زیستی (Bioamplification) می‌شود (Lusher *et al*., 2013; Bond *et al*., 2013).

به همین دلیل موجودات دریایی به مصرف این گونه پلاستیک‌ها که اثرات غیرمستقیمی از جمله تجمع در سطوح تغذیه‌ای بالاتر را دارند، حسّاسند در نتیجه مصرف آن‌ها توسط این موجودات موجب اختلال در سیستم غدد درون ریز، خطرات سم شناسی و تجمع آلاینده‌های آلی در زنجیره غذایی دریایی می‌شوند (Cedervall *et al*., 2012). این ذرات احتمالاً از طریق کاهش نور و جریان هوا مانع فتوسنتز و رشد جلبکی و تحریک تولید گونه‌های اکسیژنی واکنش‌پذیر (ROS[1]) می‌شوند (Sjollema *et al*., 2016). به طور کلی ورود این نانومواد از طریق پساب‌های صنایع مختلف به بوم سازگان‌های آبی، ضرورت بررسی تأثیر آن بر آبزیان مختلف به ویژه بر پلانکتون‌های گیاهی به عنوان اولین سطح زنجیره غذایی را بسیار با اهمیت ساخته است (Navarro *et al*., 2008).

بررسی اثرات نانوذرات بر فیتوپلانکتون‌های دریایی در واقع یک گام ضروری برای پیش‌بینی تأثیر بالقوه آن‌ها بر روی شبکه‌های غذایی دریایی، ساحلی و در کل اکوسیستم‌هایی است که آن‌ها حمایت می‌کنند (Manzo *et al*., 2015). به این منظور، این مطالعه با هدف بررسی اثرات ذرات نانوپلاستیک پلی استایرن بر رشد، محتوای کلروفیل و میزان آنتی‌اکسیدان ریزجلبک *C. vulgaris* انجام شده است.

مواد و روش‌ها

استوک اصلی ریزجلبک از پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان تهیه شد. جهت کشت ریزجلبک کلرلا وولگاریس از محیط کشت f/2 استفاده شد (An *et al*., 2008). تراکم سلولی اولیه ۳۷×۱۰^{۶}cell/ml بود. ریزجلبک در شرایط آزمایشگاهی استاندارد با دمای ۲± ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با شدت نور ۳۵۰±۳۵۰۰ لوکس و دوره تاریکی- روشنایی (۱۲:۱۲ ساعت) در یک اتاق کشت استریل همراه با هوادهی ملایم قرار گرفت. زمانی که ریزجلبک به فاز نهایی رشد رسید، از آن جهت تیمار و آزمایش‌های بعدی استفاده شد.

سوسپانسیون نانوپلاستیک از شرکت Bangs کانادا (خلوص ۹۹٪ و اندازه >۵۰ نانومتر) تهیه شد. بعد از اضافه کردن آب دیونیزه (DDW) و پراکنده کردن نانوذرات به وسیله حمام سونیکاتور (WUCA03H) به مدت ۳۰ دقیقه و متعاقب آن ورتکس کردن (CE51W) به منظور همگن کردن، آن‌ها به محیط کشت جلبکی که از قبل تهیه شده بودند، اضافه شدند (Sjollema *et al*., 2016).

سلول‌های جلبکی به مدت ۹۶ ساعت و در سه تکرار در معرض چهار غلظت ۰/۲۵، ۲/۵، ۲۵ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوپلاستیک $PS\text{-}NH_2^+$ (تیمارها) قرار گرفتند. اندازه‌گیری میزان رشد جلبکی از طریق جذب نوری (OD[2]) و شمارش سلول‌ها

[1] Reactive Oxygen Species
[2] Optical Density

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.2.5.3]

(با استفاده از لام آینه‌ای هموسیتومتر) برای تمام تیمارها و شاهد (که در معرض نانوپلاستیک قرار نگرفته بود) انجام شد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۶۸۵ نانومتر (Liang *et al*., 2009) به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (CE9200) خوانده شد.

محاسبه تراکم سلولی: میانگین تعداد سلول‌های شمارش شده به وسیله لام نئوبار× $۱۰^{۶}$(Cell/ml)

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل *a*

به منظور بررسی محتوای کلروفیل پس از سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها (به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ۶۰۰۰) و قرار دادن آن‌ها درون محیط سرد و تاریک (به مدت ۲۴ساعت) میزان جذب آن‌ها در طول موج‌های ۶۴۷ و ۶۶۴ نانومتر قرائت شد.

$C_a = ۱۱/۹۳E_{۶۶۴} - ۱/۹۳\ E_{۶۴۷}$

$E_{۶۶۴}$: جذب نوری نمونه در طول موج ۶۶۴

$E_{۶۴۷}$: جذب نوری نمونه در طول موج ۶۴۷

اندازه‌گیری تولید آنتی‌اکسیدان

برای این منظور از محلول TAC[1] (به عنوان معرف) استفاده شد. برای تهیه این محلول ۷/۴۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۰/۶ مولار، ۰/۹۹ گرم سولفات سدیم و ۱/۲۳ گرم آمونیوم مولیبدات مخلوط و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ رسانده شد.

در مرحله بعد ۰/۰۲ گرم از هر نمونه با ۲میلی لیتر DMSO مخلوط شد. از هر نمونه ۳ تکرار در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲و ۲/۵ میلی‌گرم تهیه شد. سپس۰/۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره با یک میلی لیتر از محلول TAC مخلوط و ورتکس شد. جذب نمونه ها پس از ۱۵ دقیقه نگهداری در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) در طول موج ۶۹۵ نانومتر خوانده شد. افزایش جذب نمونه‌ها به معنی افزایش قدرت احیاکنندگی نمونه‌ها می‌باشد. آب مقطر به عنوان بلانک و آسکوربیک اسید نیز به عنوان استاندارد استفاده شد (Vijayabaskar *et al*., 2012).

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های آماری نیز با استفاده از نرم افزار IBM SPSS Statistics 20 انجام گرفت. بررسی اختلاف معنی‌داری بین کلروفیل، آنتی‌اکسیدان و رشد نمونه‌ها توسط آنالیز واریانس یک طرفه (One Way Anova) انجام گرفت و مقایسه داده‌ها برای وجود معنی‌داری یا عدم وجود معنی‌داری بررسی شد. هم‌چنین، مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون Tukey در سطح اطمینان ۹۵٪ (α= ۰/۰۵) صورت گرفت. برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Excell (Microsoft Office 2010) استفاده شد.

نتایـج

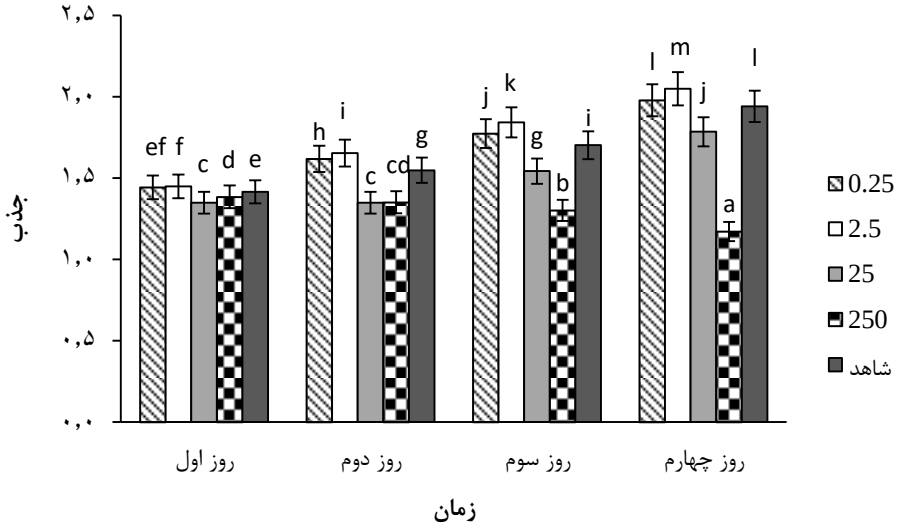
اثر نانوپلاستیک PS-NH2+ بر رشد ریزجلبک (تعیین غلظت کشندگی)

با توجه به شکل (۱) مشخص شد که نانوپلاستیک PS در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر در طول ۹۶ ساعت، اثری بر رشد ریزجلبک نداشته است؛ اما در غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر پس از ۹۶ ساعت باعث مهار رشد جلبکی تا ۱۴/۷ درصد و در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پس از ۴۸ ساعت تا ۱۲/۳درصد شده است که این مهار تا ۹۶ ساعت به ۴۰ درصد (نسبت به شاهد) رسید. در نمونه شاهد روند افزایشی روزانه از ۱/۴ تا ۱/۹ میلی‌گرم بر لیتر در میزان OD مشاهده شد.

[1] Total Antioxidant Capacity

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.2.5.3]

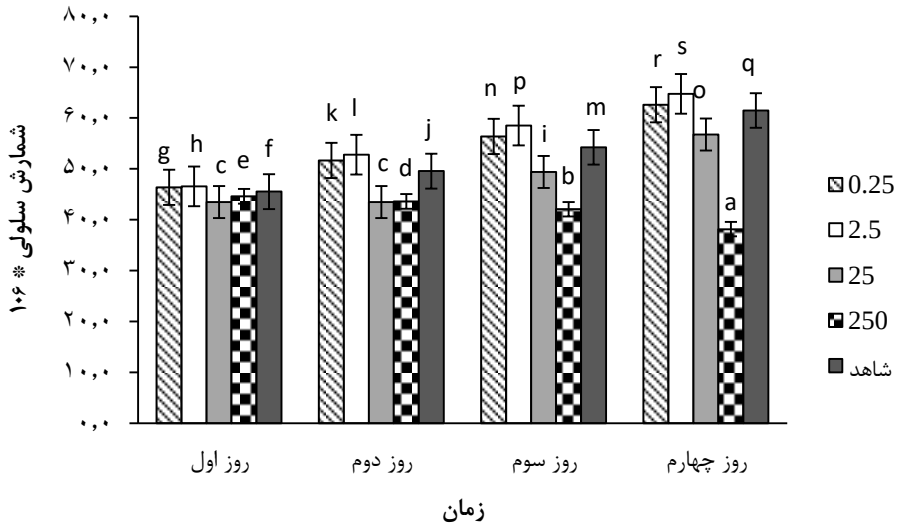


شکل ۱. روند رشد جلبک قرار گرفته در معرض نانو PS در طول ۹۶ ساعت نسبت به نمونه شاهد (انحراف معیار ± میانگین)

(حروف مشابه: اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. حروف غیرمشابه: اختلاف معنی‌دار (در سطح ۹۵٪) وجود دارد.)

اثر نانوپلاستیک $PS\text{-}NH_2^+$ بر شمارش سلولی

همان‌طور که در شکل (۲) نشان داده شده است، با گذشت زمان تعداد سلول‌های شاهد به طور مرتب افزایش پیدا کرد به طوری که در ۲۴ ساعت از ۴۳×۱۰^۶ cell/ml به ۶۰×۱۰^۶ در ۹۶ ساعت رسید. همچنین برای تیمارهای حاوی نانوپلاستیک $PS\text{-}NH_2^+$ ، از ۴۳×۱۰^۶ cell/ml به ۶۰×۱۰^۶ ، ۶۲×۱۰^۶ ، ۵۴×۱۰^۶ و ۳۷×۱۰^۶ به ترتیب برای غلظت‌های ۰/۲۵، ۲/۵، ۲۵ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر از ۲۴ ساعت تا ۹۶ ساعت رسید.



شکل ۲. روند رشد تعداد سلول‌های جلبک قرار گرفته در معرض با نانوپلاستیک PS در طول ۹۶ ساعت در مقایسه با نمونه شاهد (انحراف معیار ± میانگین)

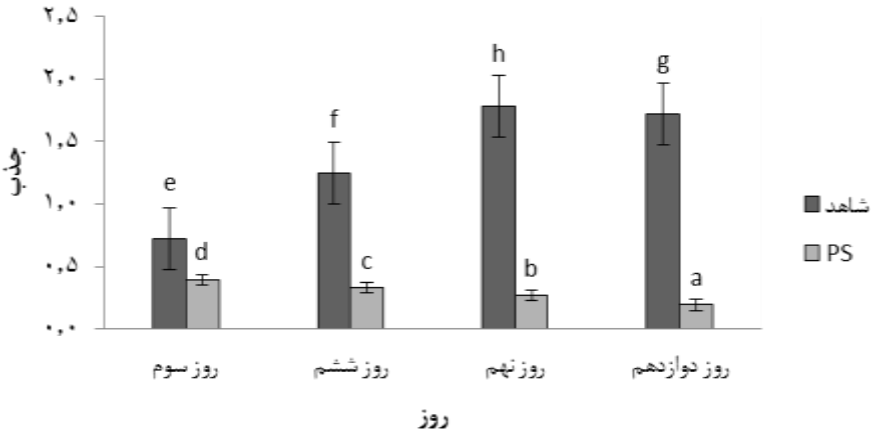
(حروف مشابه: اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. حروف غیرمشابه: اختلاف معنی‌دار (در سطح ۹۵٪) وجود دارد.)

تأثیر نانوپلاستیک $PS\text{-}NH_2^+$ بر رشد جلبک در ۱۲ روز (پس از تعیین LC_{50})

همان‌طور که در شکل (۳) نشان داده شده است، در نمونه شاهد تراکم سلولی از ۰/۳۵ میلی‌گرم بر لیتر در روز اول با یک روند افزایشی به ۱/۷۱ میلی‌گرم بر لیتر در روز دوازدهم رسید. هم‌چنین برای نمونه‌هایی که در معرض با نانوپلاستیک $PS\text{-}NH_2^+$ قرار گرفتند، تراکم سلولی از ۰/۳۵ میلی‌گرم بر لیتر به ۰/۱۹ میلی‌گرم بر لیتر در روز دوازدهم رسید. همچنین نتایج تراکم سلولی ریزجلبک نشان داد که نانوپلاستیک PS از روز اول تا روز سوم تأثیری در کاهش رشد ریزجلبک نداشته (افزایش رشد) اما بعد از روز سوم تا روز دوازدهم باعث کاهش رشد ریزجلبک شده است.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-17]

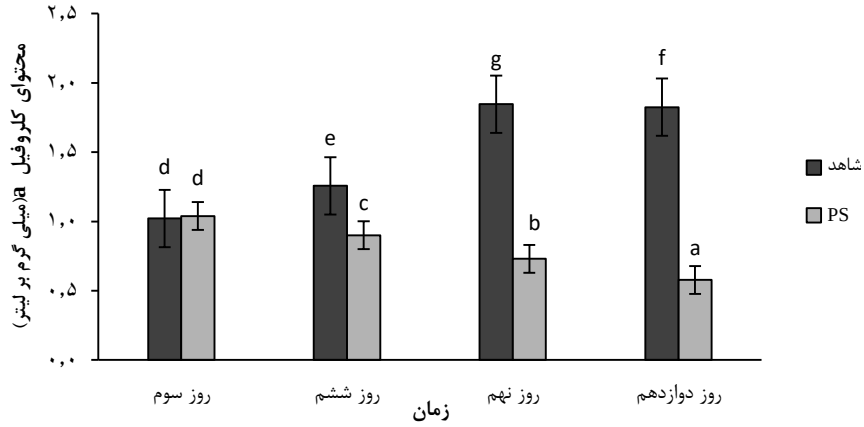
[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.2.5.3]



شکل ۳. رشد سلول‌های جلبک قرار گرفته در معرض با نانوپلاستیک PS در طول ۱۲ روز در مقایسه با نمونه شاهد(انحراف معیار ± میانگین)
(حروف مشابه: اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. حروف غیرمشابه: اختلاف معنی‌دار (در سطح ۹۵٪) وجود دارد.)

اثر نانوپلاستیک $PS\text{-}NH_2^+$ بر میزان محتوای کلروفیل *a*

همان‌طور که نتایج نشان دادند، بر اساس شکل ۴، محتوای کلروفیل *a* برای نمونه کنترل در طول ۱۲ روز روند افزایشی داشته است؛ به طوری که از ۱/۰۲ میلی‌گرم بر لیتر در روز سوم به ۱/۸ میلی‌گرم بر لیتر در روز دوازدهم رسید. همچنین برای تیمار نانوپلاستیک PS از ۱/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر به ۰/۵۷ میلی‌گرم بر لیتر از روز سوم به روز دوازدهم رسید. بنابراین، برای تیمار، روند کاهشی در محتوای کلروفیل *a* مشاهده شد. علاوه بر این نانوپلاستیک PS تا روز سوم تأثیری بر محتوای کلروفیل *a* ریزجلبک نداشته است. بر اساس آزمون ANOVA، بین نمونه‌ها (شاهد و تیمارها) به جز در روز سوم، تفاوت معنی‌داری قابل‌توجهی (sig=0, $P\leq$۰/۰۵) مشاهده شد.

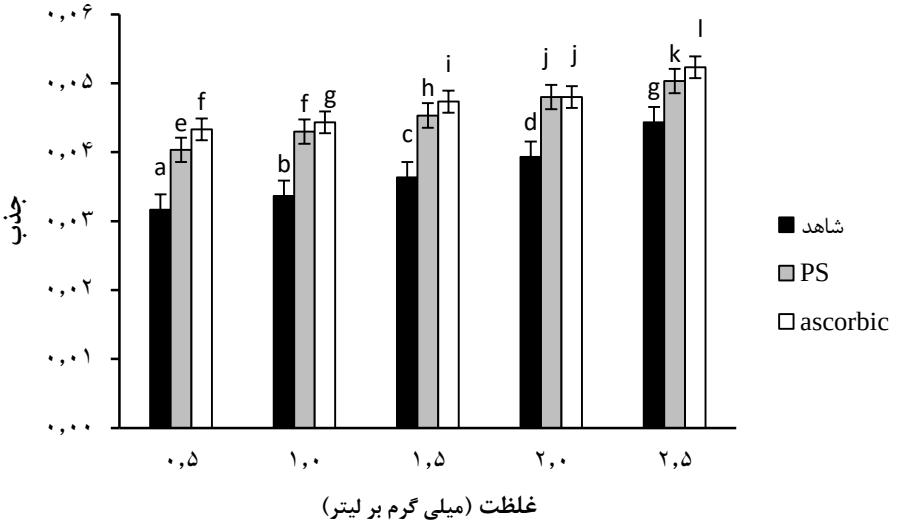


شکل ۴. روند محتوای کلروفیل *a*در نمونه شاهد و نمونه‌های قرارگرفته در معرض نانوپلاستیک PS در طول ۱۲ روز (انحراف معیار ± میانگین)
(حروف مشابه: اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. حروف غیرمشابه: اختلاف معنی‌دار (در سطح ۹۵٪) وجود دارد.)

تأثیر غلظت های مختلف نانوپلاستیک $PS\text{-}NH_2^+$ بر میزان آنتی‌اکسیدان در در روز سوم

بر اساس شکل ۵ مقایسه‌ای بین شاهد و تیمارها انجام گرفته که بیان می‌کند بین تمام غلظت‌ها (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر) در تمام نمونه‌ها در روز سوم اختلاف معنی‌دار قابل‌توجهی ($P\leq$۰/۰۵) وجود داشت. یافته‌ها تایید کردند بیشترین مقدار تولید آنتی‌اکسیدان در آسکوربیک اسید (میکروگرم بر میلی‌لیتر) و کمترین میزان تولید آنتی‌اکسیدان مربوط به نمونه شاهد بود. همچنین بیشترین میزان تولید آنتی‌اکسیدان برای نانو PS و شاهد به ترتیب در غلظت‌های ۲/۵ ،۲، ۱،۱/۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در روز سوم بود. علاوه براین، در دوزهای مختلف برای تمام نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۵) مشاهده شد.

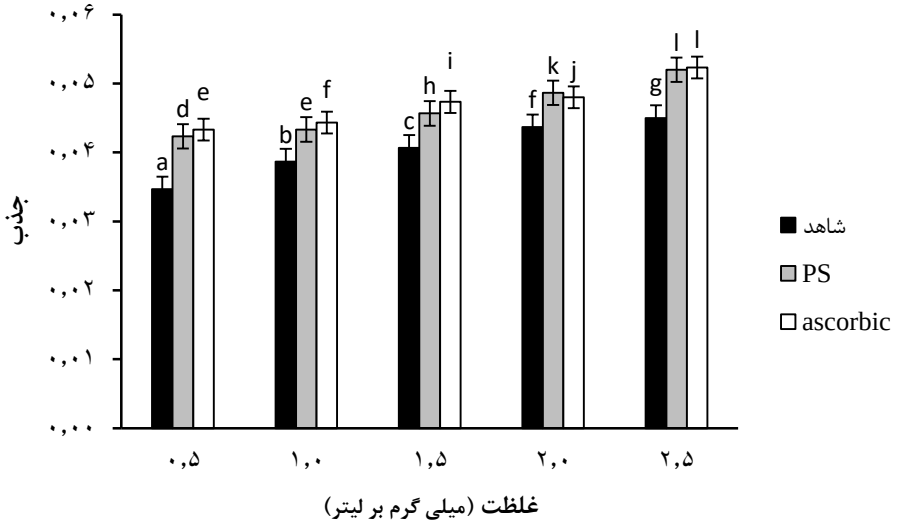
[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.2.5.3]



شکل ۵. مقایسه میزان آنتی‌اکسیدان نمونه‌های مختلف در روز سوم در غلظت‌های مختلف (میلی‌گرم بر لیتر) در مقایسه با آسکوربیک اسید به عنوان استاندارد (میکروگرم بر میلی‌لیتر) (انحراف معیار ± میانگین)
(حروف مشابه: اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. حروف غیرمشابه: اختلاف معنی‌دار (در سطح ۹۵٪) وجود دارد.)

تأثیر غلظت های مختلف نانوپلاستیک $PS\text{-}NH_2^+$ بر میزان آنتی‌اکسیدان در روز ششم

شکل (۶) موجود تفاوت معنی‌دار قابل‌توجهی ($P\leq$۰/۰۵) را بین تمام غلظت‌ها (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر) در تمام نمونه‌ها در روز ششم نشان می‌دهد. بیشترین مقدار تولید آنتی‌اکسیدان در آسکوربیک اسید (میکروگرم بر میلی‌لیتر) و کمترین میزان تولید آنتی‌اکسیدان مربوط به نمونه شاهد بود. همچنین بیشترین میزان تولید آنتی‌اکسیدان برای نانو PS و شاهد به ترتیب در غلظت‌های ۲/۵، ۲، ۱/۵،۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در روز ششم بود. با توجه به مقادیر به دست آمده، میزان تولید آنتی‌اکسیدان در نمونه‌های نانو PS و شاهد در روز ششم نسبت به روز سوم افزایش یافته بود. علاوه بر این، میزان تولید آنتی‌اکسیدان تیمار نانو PS بیشتر از نمونه‌های شاهد در تمام غلظت‌ها بود. علاوه بر این، متوجه شدیم در دوزهای مختلف برای تمام نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۵) وجود دارد.

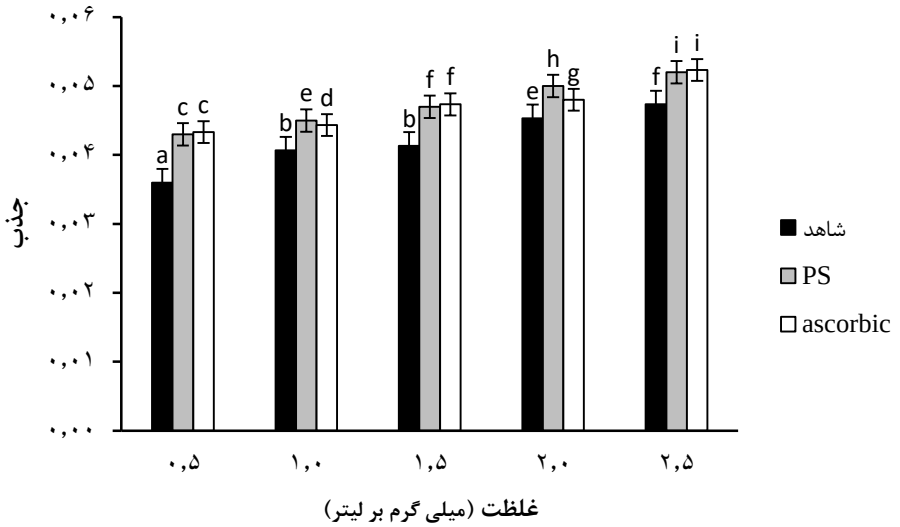


شکل ۶. مقایسه میزان آنتی‌اکسیدان نمونه‌های مختلف در روز ششم در غلظت‌های مختلف (میلی‌گرم بر لیتر) در مقایسه با آسکوربیک اسید به عنوان استاندارد (میکروگرم بر میلی‌لیتر) (انحراف معیار ± میانگین)
(حروف مشابه: اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. حروف غیرمشابه: اختلاف معنی‌دار (در سطح ۹۵٪) وجود دارد.)

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.2.5.3]

تأثیر غلظت‌های مختلف نانوپلاستیک $PS\text{-}NH_2^+$ بر میزان تولید آنتی‌اکسیدان در روز نهم

بر اساس شکل (۷) بین تمام غلظت‌ها (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر) در تمام نمونه‌ها در روز نهم تفاوت معنی‌داری قابل‌توجهی ($P\leq$۰/۰۵) مشاهده شد. بیشترین مقدار تولید آنتی‌اکسیدان در آسکوربیک اسید (میکروگرم بر میلی‌لیتر)، و کمترین میزان تولید آنتی‌اکسیدان مربوط به نمونه شاهد بود. همچنین، بیشترین میزان تولید آنتی‌اکسیدان برای نانو PS و شاهد به ترتیب در غلظت‌های ۲/۵، ۲، ۱/۵،۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در روز ششم بود. با توجه به مقادیر به دست آمده، میزان تولید آنتی‌اکسیدان در نمونه‌های نانو PS و شاهد در روز نهم نسبت به روز ششم افزایش یافته بود. میزان تولید آنتی‌اکسیدان تیمار نانو PS بیشتر از نمونه‌های شاهد در تمام غلظت‌ها بود. علاوه براین، در دوزهای مختلف برای تمام نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۵) مشاهده شد.



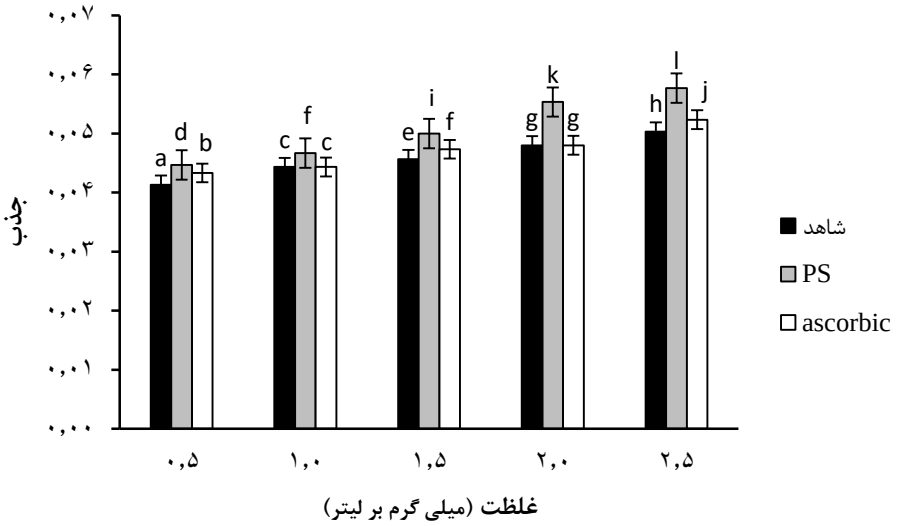
شکل ۷. مقایسه میزان آنتی‌اکسیدان نمونه‌های مختلف در روز نهم در غلظت‌های مختلف (میلی‌گرم بر لیتر) در مقایسه با آسکوربیک اسید به عنوان استاندارد (میکروگرم بر میلی‌لیتر) (انحراف معیار ± میانگین)
(حروف مشابه: اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. حروف غیرمشابه: اختلاف معنی‌دار (در سطح ۹۵٪) وجود دارد.)

تأثیر غلظت های مختلف نانوپلاستیک $PS\text{-}NH_2^+$ بر میزان تولید آنتی‌اکسیدان در روز دوازدهم

بر اساس شکل (۸) مقایسه‌ای بین شاهد و تیمارها انجام گرفته است که بیانگر تفاوت معنی‌داری قابل‌توجهی ($P\leq$۰/۰۵) بین تمام غلظت‌ها (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر) در تمام نمونه‌ها در روز دوازدهم بود. بیشترین مقدار تولید آنتی‌اکسیدان در آسکوربیک اسید (میکروگرم بر میلی‌لیتر) و کمترین میزان تولید آنتی‌اکسیدان مربوط به نمونه شاهد بود. همچنین بیشترین میزان تولید آنتی‌اکسیدان برای نانو PS و شاهد به ترتیب در غلظت‌های ۲/۵، ۲، ۱/۵،۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در روز دوازدهم بود. با توجه به مقادیر به دست آمده، میزان تولید آنتی‌اکسیدان در نمونه‌های نانو PS و شاهد در روز دوازدهم نسبت به روز نهم افزایش یافته بود. میزان تولید آنتی‌اکسیدان تیمار نانو PS بیشتر از نمونه‌های شاهد در تمام غلظت‌ها بود. علاوه براین، در دوزهای مختلف برای تمام نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۵)، آشکار شد.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.2.5.3]



شکل ۸. مقایسه میزان آنتی‌اکسیدان نمونه‌های مختلف در روز دوازدهم در غلظت‌های مختلف (میلی‌گرم بر لیتر) در مقایسه با آسکوربیک اسید به عنوان استاندارد (میکروگرم بر میلی‌لیتر) (انحراف معیار ± میانگین) (حروف مشابه: اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. حروف غیرمشابه: اختلاف معنی‌دار (در سطح ۹۵٪) وجود دارد.)

بحث

به دلیل پراکنش گسترده خرده ذرات پلاستیکی در سطح نانو و تأثیرگذاری شدید آن‌ها بر موجودات به خصوص موجودات دریایی از جمله ریزجلبک‌ها، این مطالعه با هدف بررسی اثرات زیستی و زیست محیطی ذرات نانو پلاستیک بر ریزجلبک *C. vulgaris* انجام شده است. طی این بررسی مشخص شد که رشد این گونه به شدت تحت تأثیر نانومواد پلاستیکی قرار دارد و باعث مهار آن می‌شود که با مطالعات انجام شده پیشین مطابقت داشت (Bergami *et al*., 2017; Besseling *et al*., 2014).

اثر منفی نانوپلاستیک بر رشد ریزجلبک به دلیل اثرات سایه به‌وسیله این ذرات و متعاقباً کاهش دسترسی ریزجلبک به نور مناسب و کاهش جذب CO_2 می‌باشد (Besseling *et al*., 2014). همچنین گروه‌های آمینو در سطح NP نقش مهمی در تعیین سمیت دارند. در تحقیقات مختلف گزارش شده است که جذب $PS\text{-}NH_2$ در ریزجلبک وابسته به دوز است (با افزایش غلظت، سمیت هم افزایش می یابد) (Bhattacharya *et al*., 2010) و این نانوذرات در سلول‌های جلبکی باعث ایجاد اختلال و ممانعت در فعالیت‌های سلولی می‌شوند (Leroueil *et al*., 2008). علاوه بر این، مطالعات مختلف نشان داده اند که نانوذرات پلاستیکی با بار مثبت مانند $PS\text{-}NH_2$ با پیوستگی بالایی با دو لایه لیپیدی غشای سلولی باند می‌شوند و بدین صورت، از طریق اندوسیتوز جذب سلول شده (Van Lehn and Alexander-Katz, 2011; Lin and Alexander-katz, 2013) و سمیت خود را اعمال می‌کنند (Bexiga *et al*., 2011; Wang *et al*., 2013).

نتایج این تحقیق، کاهش محتوای کلروفیل را در روزهای مختلف نسبت به نمونه شاهد نشان داد. به‌طور کلی کاهش محتوای کلروفیل در تمامی تیمارها مشاهده شد. محتوای کلروفیل اغلب برای تخمین زیست‌توده جلبک‌ها و پاسخ آن‌ها به استرس زیست محیطی استفاده می‌شود (Zhang *et al*., 2017). به همین دلیل محتوای رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل *a*، یک شاخص مفید برای بررسی وضعیت رشد جلبک است (Li *et al*., 2015). کاهش در محتوای کلروفیل *a* به دنبال در معرض قرار گرفتن با نانوپلاستیک $PS\text{-}NH_2^+$ دیده شد که ممکن است تا حدودی رخداد اثرات سایه را تائید کند (Wang *et al*., 2016; Besseling *et al*., 2014). تحقیقات مختلفی به نقش اثرات سایه در سمیت نانوپلاستیک‌ها در ریزجلبک‌ها پرداخته اند. بسیاری از محققین معتقدند که پیچیده شدن سلول‌ها توسط این ذرات یا جذب نانوپلاستیک‌ها منجر به ناکافی بودن نور برای سلول‌های جلبکی می‌شود که متعاقب آن موجب مهار رشد می‌شود (Chen *et al*., 2012; Xia *et al*., 2015). همچنین این

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.2.5.3]

ذرات (نانوپلاستیک‌ها) قادرند در سطح سلول باقی بمانند و باعث تخریب سطح سلول شوند و یا از غشا پلاسمایی عبور کنند و اندامک‌های سلولی را از بین ببرند و در فعالیت‌های مختلف سلولی مانند آنزیم‌های فتوسیستم II آشفتگی و اختلال ایجاد کنند که در نهایت باعث کاهش محتوی کلروفیل و متعاقباً کاهش فتوسنتز می‌شود (Cole, 2008). از سویی دیگر، همان‌طور که نتایج نشان دادند بیشترین میزان تولید آنتی‌اکسیدان در نمونه‌هایی بود که در معرض نانوپلاستیک PS قرار گرفتند و کمترین میزان تولید آنتی‌اکسیدان مربوط به نمونه‌های شاهد در تمامی روزها بود. علاوه براین مشخص شد که روند میزان تولید آنتی‌اکسیدان در تمامی تیمارها با گذشت زمان افزایش یافت (Bergami *et al*., 2017; Besseling *et al*., 2014; Bhattacharya *et al*., 2010; Wang *et al*., 2016; Manzo *et al*., 2013). اکسیداسیون ناشی از نانوپلاستیک‌ها در سلول‌های جلبکی منجر به اختلال در عملکرد سلولی و تغییرات خواص فیزیکی و شیمیایی غشاهای سلولی می‌شود که در نهایت باعث اختلال در عملکرد حیاتی سلول و کاهش سلول‌های زنده می‌شود (Franklin *et al*., 2007). پیش از این نشان داده شده است که شدت اثر سایه توسط ذرات پلاستیکی ممکن است موجب کاهش جذب CO_2 و به دنبال آن افزایش تولید ROS شود (Besseling *et al*., 2014). ROS ها در واقع گونه‌های اکسیژنی واکنش‌پذیری هستند که سمیت سلولی را با انجام واکنش‌های اکسیداسیونی القا می کنند و به همین دلیل نشان‌گرهای شیمیایی مناسبی برای سمیت نانوذرات در نظر گرفته شده اند بدین صورت که، زمانی که تعادل بین ROS و دفاع‌های آنتی‌اکسیدان دچار اختلال می‌شود استرس اکسیداتیو اتفاق می‌افتد (Lee *et al*., 2013; Xia *et al*., 2015; Chen *et al*., 2012). نانوذرات در درجه اول رادیکال‌هایی در محیط تولید می‌کنند (Brunet *et al*., 2009) که باعث نابودی ساختار سطح سلول‌های جلبک می‌شوند (Hong *et al*., 2005). در مورد اثرات غیرمستقیم نانوذرات، آن‌ها عمدتاً باعث محدودیت‌های فیزیکی یا انتشار یون‌های سمی (به عنوان مثال نانوذرات فلزی) یا تولید ROS می‌شوند (Chen and Elimelech, 2007). همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ممکن است بر اساس غلظت و نوع نانوذرات تغییر کند (Castiglione *et al*., 2014).

به طور کلی می‌توان گفت نانوپلاستیک PS باعث مهار رشد جلبکی به دلیل به دام انداختن سلول‌های جلبکی و ممانعت از عدم دسترسی جلبک به نور کافی برای رشد (کاهش فتوسنتز و کلروفیل) شدند. نانوپلاستیک PS در درازمدت باعث سمیت و آسیب‌های جدی بر ریزجلبک می‌شود به گونه‌ای که در غلظت‌های بالاتر این اثرات بیشتر می‌شود. نانوپلاستیک‌ها می‌توانند به راحتی توسط میکروارگانیسم‌ها جذب شوند، از غشاهای بیولوژیکی عبور و در بافت‌ها نفوذ کنند و حتی در اندام‌ها و بافت‌ها جمع و ذخیره شوند. مساحت سطحی بالا، آن‌ها را قادر به جذب شدید ترکیبات سمی می‌کند. به طوری‌که این مواد علاوه بر اینکه خودشان به تنهایی باعث سمیت می‌شوند، حامل دیگر آلاینده‌ها می‌توانند باشند و باعث عوارض شدیدتری از جمله اختلال و کاهش توانایی تغذیه، کاهش باروری و تولیدمثل، زخم و پارگی و مرگ در موجودات مختلف شوند. بنابراین، توانایی تولید ROS و آسیب اکسیدانی، می‌تواند یک آزمایش برای مقایسه پتانسیل سمی نانوذراتی از جمله نانوپلاستیک‌ها ارائه دهد. در انتها پیشنهاد می‌گردد، قوانینی برای ممانعت از ورود هرگونه آلاینده‌ای به خصوص نانوذرات از طریق ممنوع کردن و یا جریمه کردن صنایعی که باعث پراکنش و تخلیه این نوع آلاینده‌ها به محیط‌های آبی می‌شوند، وضع گردد و همچنین مطالعات جامع تر و بیشتری بر تحت معرض قرار گرفتن موجودات دیگر با نانوذرات دیگر در آینده انجام گیرد تا بتوان محیط زیست پایدارتری داشته باشه باشیم.

منابـع

An, Z., Wang, Z., Li, F., Tian, Z., Hu, H. 2008. Allelopathic inhibition on red tide microalgae *Skeletonema costatum* by five macroalgal extracts. Frontiers of Environmental Science and Engineering in China. 2(3): 297-305.

Andrady, A.L., Neal, M.A. 2009. Applications and societal benefits of plastics. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences. 364(1526): 1977-1984.

Andrady, A.L. 2011. Microplastics in the marine environment. Marine Pollution Bulletin. 62(8): 1596-1605.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.2.5.3]

Bandyopadhyay, A., Basak, G.C. 2007. Studies on photocatalytic degradation of polystyrene. Materials Science and Technology. 23(3): 307-314.

Bergami, E., Pugnalini, S., Vannuccini, M.L., Manfra, L., Faleri, C., Savorelli, F., Dawson, K.A., Corsi, I. 2017. Long-term toxicity of surface-charged polystyrene nanoplastics to marine planktonic species *Dunaliella tertiolecta* and *Artemia franciscana*. Aquatic Toxicology. 189: 159-169.

Besseling, E., Wang, B., Lürling, M., Koelmans, A.A. 2014. Nanoplastic affects growth of *S. obliquus* and reproduction of *D. magna*. Environmental Science and Technology. 48(20): 12336-12343.

Bexiga, M.G., Varela, J.A., Wang, F., Fenaroli, F., Salvati, A., Lynch, I., Simpson, J.C., Dawson, K.A. 2011. Cationic nanoparticles induce caspase 3-,7-and 9-mediated cytotoxicity in a human astrocytoma cell line. Nanotoxicology. 5(4): 557-567.

Bhattacharya, P., Lin, S., Turner, J.P., Ke, P.C. 2010. Physical adsorption of charged plastic nanoparticles affects algal photosynthesis. The Journal of Physical Chemistry. 114(39): 16556-16561.

Bond, A.L., Provencher, J.F., Elliot, R.D., Ryan, P.C., Rowe, S., Jones, I.L., Robertson, G.J., Wilhelm, S.I. 2013. Ingestion of plastic marine debris by Common and Thick-billed Murres in the northwestern Atlantic from 1985 to 2012. Marine Pollution Bulletin. 77(1-2): 192-195.

Brunet, L., Lyon, D.Y., Hotze, E.M., Alvarez, P.J., Wiesner, M.R. 2009. Comparative photoactivity and antibacterial properties of C60 fullerenes and titanium dioxide nanoparticles. Environmental Science and Technology. 43(12): 4355-4360.

Castiglione, M.R., Giorgetti, L., Cremonini, R., Bottega, S., Spanò, C. 2014. Impact of TiO_2 nanoparticles on *Vicia narbonensis* L.: potential toxicity effects. Protoplasma. 251(6): 1471-1479.

Cedervall, T., Hansson, L.A., Lard, M., Frohm, B., Linse, S. 2012. Food chain transport of nanoparticles affects behaviour and fat metabolism in fish. PloS One. 7(2): 32254.

Chen, K.L., Elimelech, M. 2007. Influence of humic acid on the aggregation kinetics of fullerene (C60) nanoparticles in monovalent and divalent electrolyte solutions. Journal of Colloid and Interface Science. 309(1): 126-134.

Chen, L., Zhou, L., Liu, Y., Deng, S., Wu, H., Wang, G. 2012. Toxicological effects of nanometer titanium dioxide (nano-TiO_2) on *Chlamydomonas reinhardtii*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 84: 155-162.

Cole, P. 2008. Nanoparticles in natural aquatic environments: A physical, chemical and ecotoxicological of cerium dioxide and silver. Postgraduate Research Conference Proceedings: water-how need drives research underpins solutions to world-wide problems, July 20th-25th. Birmangham, UK.

Derraik, J.G. 2002. The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. Marine Pollution Bulletin. 44(9): 842-852.

Eriksen, M., Mason, S., Wilson, S., Box, C., Zellers, A., Edwards, W., Amato, S. 2013. Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. Marine Pollution Bulletin. 77(1-2): 177-182.

Franklin, N.M., Rogers, N.J., Apte, S.C., Batley, G.E., Gadd, G.E., Casey, P.S. 2007. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and $ZnCl_2$ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility. Environmental Science and Technology. 41(24): 8484-8490.

Gregory, M.R., Andrady, A.L. 2003. Plastics in the marine environment. Plastics and the Environment. 379: 389-90.

Hartmann, N.I.B., Nolte, T., Sørensen, M.A., Jensen, P.R., Baun, A. 2015. Aquatic ecotoxicity testing of nanoplastics: lessons learned from nanoecotoxicology. In ASLO Aquatic Sciences Meeting 2015.

Hofer, T.N. 2008. Marine Pollution: New Research. Nova Publishers.

Hong, F., Zhou, J., Liu, C., Yang, F., Wu, C., Zheng, L., Yang, P. 2005. Effect of nano-TiO_2 on photochemical reaction of chloroplasts of spinach. Biological Trace Element Research. 105(1-3): 269-279.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.2.5.3]

Kaposi, K.L., Mos, B., Kelaher, B.P., Dworjanyn, S.A. 2014. Ingestion of microplastic has limited impact on a marine larva. Environmental Science and Technology. 48(3): 1638-1645.

Lee, S., Kim, S., Kim, S., Lee, I. 2013. Assessment of phytotoxicity of ZnO NPs on a medicinal plant, *Fagopyrum esculentum*. Environmental Science and Pollution Research. 20(2): 848-854.

Leroueil, P.R., Berry, S.A., Duthie, K., Han, G., Rotello, V.M., McNerny, D.Q., Baker, J.R., Orr, B.G., Banaszak Holl, M.M. 2008. Wide varieties of cationic nanoparticles induce defects in supported lipid bilayers. Nano Letters. 8(2): 420-424.

Li, F., Liang, Z., Zheng, X., Zhao, W., Wu, M., Wang, Z. 2015. Toxicity of nano-TiO_2 on algae and the site of reactive oxygen species production. Aquatic Toxicology. 158: 1-13.

Liang, Y., Sarkany, N., Cui, Y. 2009. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. Biotechnology Letters. 31(7): 1043-1049.

Lin, J., Alexander-Katz, A. 2013. Cell membranes open "doors" for cationic nanoparticles/ biomolecules: insights into uptake kinetics. Acs Nano. 7(12): 10799-10808.

Lithner, D., Larsson, Å., Dave, G. 2011. Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition. Science of the Total Environment. 409(18): 3309-3324.

Lusher, A.L., McHugh, M., Thompson, R.C. 2013. Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel. Marine Pollution Bulletin. 67(1-2): 94-99.

Manzo, S., Miglietta, M.L., Rametta, G., Buono, S., Di Francia, G. 2013. Embryotoxicity and spermiotoxicity of nanosized ZnO for Mediterranean sea urchin *Paracentrotus lividus*. Journal of Hazardous Materials. 254: 1-9.

Manzo, S., Buono, S., Rametta, G., Miglietta, M., Schiavo, S., Di Francia, G. 2015. The diverse toxic effect of SiO_2 and TiO_2 nanoparticles toward the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta*. Environmental Science and Pollution Research. 22(20): 15941-15951.

Navarro, E., Baun, A., Behra, R., Hartmann, N.B., Filser, J., Miao, A.J., Quigg, A., Santschi, P.H., Sigg, L. 2008. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. Ecotoxicology. 17(5): 372-386.

Setälä, O., Fleming-Lehtinen, V., Lehtiniemi, M. 2014. Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. Environmental Pollution. 185: 77-83.

Sjollema, S.B., Redondo-Hasselerharm, P., Leslie, H.A., Kraak, M.H., Vethaak, A.D. 2016. Do plastic particles affect microalgal photosynthesis and growth?. Aquatic Toxicology. 170: 259-261.

Van Lehn, R.C., Alexander-Katz, A. 2011. Penetration of lipid bilayers by nanoparticles with environmentally-responsive surfaces: simulations and theory. Soft Matter. 7(24): 11392-11404.

Vert, M., Hellwich, K.H., Hess, M., Hodge, P., Kubisa, P., Rinaudo, M., Schué, F. 2012. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). Pure and Applied Chemistry. 84(2): 377- 410.

Vijayabaskar, P., Vaseela, N., Thirumaran, G. 2012. Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae *Sargassum swartzii*. Chinese Journal of Natural Medicines. 10(6): 421-428.

Wang, F., Bexiga, M.G., Anguissola, S., Boya, P., Simpson, J.C., Salvati, A., Dawson, K.A. 2013. Time resolved study of cell death mechanisms induced by amine-modified polystyrene nanoparticles. Nanoscale. 5(22): 10868-10876.

Wang, Y., Zhu, X., Lao, Y., Lv, X., Tao, Y., Huang, B., Wang, J., Zhou, J., Cai, Z. 2016. TiO_2 nanoparticles in the marine environment: Physical effects responsible for the toxicity on algae *Phaeodactylum tricornutum*. Science of the Total Environment. 565: 818-826.

Xia, B., Chen, B., Sun, X., Qu, K., Ma, F., Du, M. 2015. Interaction of TiO_2 nanoparticles with the marine microalga *Nitzschia closterium*: growth inhibition, oxidative stress and internalization. Science of the Total Environment. 508: 525-533.

Zhang, C., Chen, X., Wang, J., Tan, L. 2017. Toxic effects of microplastic on marine microalgae *Skeletonema costatum*: Interactions between microplastic and algae. Environmental Pollution. 220: 1282-1288.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.2.5.3]