Archive of SID

اقیانوس‌شناسی/ سال دوازدهم/ شماره ٤٥/ بهار ١٤٠٠/١٠/٨٨-٧٩

بررسی غلظت میانه کشندگی (LC50) نانوذرات نقره و مقایسه آن با نیترات نقره در گاماروس دریای خزر (*Pontogammarus maeoticus*)

آرزو به‌نژاد[1]، فاطمه کاردل[2*]، حسن تقوی جلودار[3]، شیلا امیدظهیر[4]

۱- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد زیست شناسی دریا، دانشگاه مازندران، بابلسر، پست الکترونیکی: behnezhad_a@yahoo.com
۲- دانشیار علوم محیط زیست، دانشگاه مازندران، بابلسر، پست الکترونیکی: f.kardel@umz.ac.ir
۳- دانشیار زیست شناسی دریا، دانشگاه مازندران بابلسر، پست الکترونیکی: H.Taghavi@umz.ac.ir
٤- استادیار زیست شناسی دریا، دانشگاه مازندران بابلسر، پست الکترونیکی: sh.omidzahir@umz.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۸/۹/۲۸ * نویسنده مسوول تاریخ پذیرش: ۹۹/۸/۲٦

چکیده

نانوذرات نقره امروزه به طور گسترده در علوم و صنایع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند. کاربرد وسیع نانوذرات نقره سبب ورود آن از طریق پساب به محیط‌های آبی شده است و به همین جهت بررسی اثرات نانوذرات نقره بر موجودات آبزی مختلف امری ضروری است. مطالعه حاضر به بررسی میزان غلظت کشندگی نانوذرات نقره و مقایسه آن با نیترات نقره در گاماروس دریای خزر (*Pontogammarus maeoticus*) پرداخته است. به این منظور ابتدا آزمایش تعیین محدوده کشندگی نانوذرات نقره در گاماروس‌ها انجام شد. سپس برای تعیین غلظت میانه کشندگی (LC50)، گاماروس‌ها در معرض غلظت‌های ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ ، ۲ ، ٤ و ۸ میلی‌گرم بر یک لیتر نانوذرات نقره و نیترات نقره قرار گرفتند و در مدت زمان ۹٦ ساعت میزان مرگ و میر ثبت شد. سپس با استفاده از بررسی آماری مقادیر مختلف غلظت کشندگی محاسبه گردید. در این مطالعه مقدار LC50 ۹٦ ساعته برای نانوذرات نقره و نیترات نقره به ترتیب ۷۷ /۳ و ۵/۷۸ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد غلظت کشندگی نانوذرات نقره در مقایسه با نیترات نقره کمتر می‌باشد و با افزایش غلظت نانوذرات نقره همراه با افزایش مدت زمان مواجهه، میزان مرگ و میر گاماروس‌ها روند افزایشی تندتری نسبت به نتیرات نقره می‌یابد.

کلمات کلیدی: *نانوذرات نقره، غلظت میانه‌کشندگی، نیترات نقره، گاماروس، دریای خزر.*

۱. مقدمه

امروزه استفاده از فن‌آوری نانو و محصولاتی که بر پایه نانو ساخته می‌شوند به طور چشمگیری رو به افزایش می‌باشد (Bar-Ilan et al., 2008). زمانی که ابعاد مولکولی یک ماده در گذر از میکرومتر به نانومتر تغییر می‌کند، تفاوت زیادی در خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی آن به وجود می‌آید که می‌توان تولیدات جدید با خواص منحصر به فرد از این فن‌آوری به دست آورد (Kreyling et al., 2010). از جمله تغییرات شیمیایی و فیزیکی به وجود آمده در اصلاح یک ماده به مقیاس نانو می‌توان

www.SID.ir

Archive of SID

به افزایش استحکام، کم شدن وزن و سبک‌تر شدن، افزایش مقاومت شیمیایی و مقاومت حرارتی اشاره کرد (Aschberger et al., 2011). علت ایجاد خواص جدید در این مواد بالا بودن نسبت سطح به حجم ذرات نانو می‌باشد (شبرهنگ و میرواقفی، ۱۳۹۱). امروزه در بسیاری از علوم و صنایع همچون محیط زیست، پزشکی، الکترونیک، داروسازی، لوازم آرایشی، تولید انرژی، کشاورزی، تولید انواع سنسورها، نانو واکسن‌ها، تصفیه فاضلاب، رنگ‌های شیمیایی، لایه محافظ جدید با مقاومت بالا در عینک، شیشه و سرامیک از نانو ذرات استفاده می‌شود (Kreyling, 2010). همچنین از فناوری نانو به میزان چشمگیری در صنعت صید و آبزی‌پروری استفاده می‌شود. به طور مثال جهت صید بیشتر آبزیان، قلاب‌هایی از جنس نانو رنگ‌ها به کار برده می‌شود. ویژگی خاص این نوع رنگ‌ها انعکاس نور در چند جهت می‌باشد که باعث جذب ماهی‌ها شده و میزان صید را تا سه برابر نسبت به قلاب‌های معمولی افزایش می‌دهد (Rather et al., 2011).

با افزایش تولیدات صنعتی و کاربرد گوناگون نانو مواد در زندگی روزمره بشر، انتشار این مواد از طریق زباله‌های شهری، صنعتی و کشاورزی در محیط افزایش یافته است که این امر خطرات زیست محیطی متعددی در پی داشته است (Daughton, 2004; Moore, 2006). یکی از چالش‌های به‌کارگیری فن‌آوری‌های نوین، ورود مواد آلاینده و خصوصا نانوذرات به منابع آبی است (صیدایی و همکاران ۱۳۹۳) زیرا آلاینده‌های فلزی از دسته آلاینده‌های پایدار در محیط زیست هستند و قابلیت تجزیه زیستی ندارند (De Mora et al., 2004).

پژوهش‌های مختلف نشان داده است یکی از دلایل سمیت نانوذرات، اندازه بسیار کوچک آن‌ها است. زیرا این ذرات با دارا بودن اندازه کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر قابلیت رقابت با سایر اجزا زیستی مانند گلبول‌های قرمز (۶-۸µm) برای عبور از غشاء سلولی را داشته و می‌توانند وارد سلول شوند. تحقیقات سم شناسی حاکی از آن است که در صورت در معرض قرارگرفتن اندام‌های تنفسی جانوران با نانو مواد، پاسخ‌های التهابی مضرتری نسبت به زمانی که در معرض ذرات میکرومتری با ترکیب شیمیایی و غلظت برابر قرار می‌گیرند، ایجاد می‌شود (Warheit et al., 2004). زیرا کوچک بودن اندازه ذرات نانو، منجر به بروز التهابات تنفسی شدیدتری نسبت به اندازه بزرگتر همان ذرات شود (Midander et al., 2009).

در بین نانوذرات فلزی، نانو ذرات نقره از جمله ذراتی هستند که امروزه به طور گسترده‌ای استفاده می‌شوند (Bernhardt et al., 2010). نانوذرات نقره به عنوان آنتی بیوتیک‌های موثر علیه باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها استفاده می‌شوند (Marambio and Hoek, 2010). ترکیبات نقره به عنوان ضدعفونی‌کننده قوی در علم پزشکی بسیار به کار گرفته می‌شوند. به طور مثال از سولفید نقره برای درمان عفونت چشمی نوزادان و یا از ترکیبات نقره برای از بین بردن عامل سوزاک استفاده می‌شود (روشنایی و همکاران، ۱۳۹۱). از جمله کاربردهای نانوذرات نقره در صنعت نساجی جلوگیری از عفونت باکتریایی است. مثلا برای مقابله با پاتوژن‌هایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس نانوذرات نقره در لباس‌های بیمارستانی به کار می‌روند (Duran et al., 2007) و یا در تولید البسه‌ای مانند جوراب برای جلوگیری از بوی ناخوشایند ناشی از فعالیت میکروارگانیسم‌ها از نانونقره بهره گرفته می‌شود (Perera et al., 2013). به کارگیری روزافزون نانوذرات نقره با توجه به کاربرد وسیع آن سبب ورود این نانو مواد از طریق پساب به محیط‌های آبی شده که لزوم بررسی اثرات آن بر موجودات آبزی مختلف را ضروری ساخته است (Navarro et al., 2008).

نانو ذرات نقره نسبت به میکرو ذرات نقره سمیت بیشتری از خود نشان می‌دهند که تا به امروز مکانیسم آن به روشنی مشخص نشده است (Tang et al., 2009). سطح نانوذرات نقره در محیط و در بدن موجودات زنده به سهولت اکسیده شده و منجر به رهاسازی یون نقره Ag^{+} می‌شود (McShan et al., 2014). سمیت بالاتر ایجاد شده توسط نانوذرات نقره، می‌تواند بدلیل ساطع شدن یون‌های نقره از سطح این نانو مواد باشد. یون نقره Ag^{+} در میان سایر نانوذرات، یکی از سمی‌ترین اشکال نقره در محیط آبی بوده و از عوامل بازدارنده فعالیت آنزیم‌های موثر بر چرخه عناصر فسفر، گوگرد و نیتروژن است (Ratte, 1999). علاوه بر این، یون نقره باعث اختلال در همانندسازی DNA شده و مانع تنفس باکتریایی و سنتز ATP می‌گردد (Kummar et al., 2005). به همین دلیل تعیین غلظت کشنده و همچنین حداکثر غلظت مجاز این نانوذرات در انواع مختلف ماهی و سخت‌پوستانی که به عنوان غذای آغازین سایر آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرند ضروری است.

تاکنون گزارشات مختلفی از سمیت نانوذرات نقره بر روی موجودات آبزی آب‌های شیرین و دریایی صورت گرفته است (Barllan et al., 2009). در مطالعه ای میزان LC_{50} نانوذرات نقره

www.SID.ir

Archive of SID

در طول ٤٨ ساعت در دافنی ماگنا (*Daphnia magna*) ٠/٤١٦ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد و با افزایش غلظت و مدت مجاورت میزان سمیت آن افزایش یافت (اعتمادزاده و همکاران، ١٣٩٥). بررسی اثرات مزمن نانوذرات نقره بر بازماندگی و ویژگی‌های تولیدمثلی آرتمیای دریاچه ارومیه (*Artemia urmian*) حاکی از کاهش بازماندگی و توان تولیدمثلی این جانور بود (محمدی، سروی مغانلو و آتشیار، ١٣٩٥). میزان LC_{50} نانوذرات نقره در ناپلی آرتمیا *Artemia franciscana* در مدت ٤٨ ساعت ٣١/٨ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شده است (مشجور و همکاران، ١٣٩٦). اثرات نانوذرات نقره بر روی بافت آبشش گربه‌ماهی رنگین‌کمان به صورت هایپرپلازی رشته‌های آبششی و تیغه‌های ثانویه، کوتاه‌شدن و حلقه‌ای شدن تیغه‌های ثانویه آبششی مشاهده گردید (رزم آرا و همکاران، ١٣٩٣). در مطالعه‌ای نانوذرات نقره در گاماروس *Gammarus pseudosyriacus* سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتانیون پراکسیداز و استیل کولین استراز گردید (Shirvani et al., 2013). مطالعات نشان دادند نانوذرات نقره سبب استرس اکسیداتیو و اختلال در تنظیم فشار خون در ماهی‌های سفید (*Rutilus kutum*) دریای خزر گردید (Masouleh et al., 2017). برخی از پارامترهای فیزیکی- شیمیایی آب سبب تغییر اثرات سمی نانونقره بر آبزیان در محیط‌های آبی می‌گردد. بعنوان مثال مطالعه سالاری جو و همکاران (١٣٩٠) نشان دادند میانه کشندگی نانوذرات نقره (LC_{50})٩٦ ساعته بر بچه ماهی قزل‌آلا رنگین کمان در آب لب‌شور دریای خزر ١٢ برابر کمتر از آب شیرین است.

در مورد سمیت نانوذرات نقره بر روی گاماروس مطالعات اندکی صورت گرفته است و اطلاعات کافی در مورد میزان سمیت و غلظت میانه‌کشندگی نانوذرات نقره در محیط‌های دریایی برگاماروس‌ها وجود ندارد. گاماروس از مهمترین سخت پوستان سواحل دریای خزر و از خانواده گاماریده (Gammaridae) می‌باشد که نقش مهمی در زنجیره غذایی ایفاء می‌کند و با تغذیه از پوده‌ها، انرژی را به رده‌های بالاتر غذایی مانند ماهی‌های اقتصادی دریای خزر (انواع تاس ماهی‌ها، سوف، اردک ماهی، کفال وکپور ماهی‌ها) و پرندگان (پاشلک و فلامینگوها) انتقال می‌دهد (عطاران و همکاران، ١٣٩٥). همچنین از گاماروس در صنعت آبزی پروری به دلیل ارزش غذایی بالا، قابلیت تولید مثل زیاد، پراکنش زیاد در محیط‌های آبی ایران و کارتنوئیدهای موجود در این آبزی برای تولید پیگمان رنگی و افزایش کیفیت گوشت ماهی‌ها در جیره غذایی برای تکثیر و پرورش ماهی‌های اقتصادی استفاده می‌شود (عظیمی و همکاران، ١٣٩٠). این موجودات آبزی یکی از مناسب ترین موجودات برای مدلسازی و بررسی سمیت زیستی نانوذرات در محیط‌های آبی مختلف آب شیرین، شور و لب شور به شمار می‌آیند (Alonso and De lange, 2010). انتخاب گاماروس به عنوان یک گونه آزمایشی جهت زیست سنجی آلودگی‌ها، به دلیل فراوانی، اندازه کوچک، چرخه زندگی کوتاه، حساسیت بالا به خیلی از انواع مواد شیمیایی و سهولت استفاده از این آبزی نسبت به سایر آبزیان مانند ماهی‌ها در شرایط آزمایشگاهی است (Alonso and De lange, 2010). مطالعه حاضر با هدف ارزیابی میزان غلظت کشندگی نانوذرات نقره و مقایسه آن با نیترات نقره در گاماروس *Pontogammarus maeoticus* انجام شده است.

٢. روش کار

٢-١ نمونه برداری و نحوه نگه‌داری و سازگاری گاماروس‌ها در محیط آزمایشگاه

ابتدا آب دریا از عمق حدود ٢ متری با استفاده از قوطی پلاستیکی از جنس پلی پروپیلن تیره نمونه برداری شدو غلظت نقره نمونه آب دریا با سه تکرار با استفاده از دستگاه جذب اتمی شعله تعیین شد. در تحقیق حاضر گاماروس دریای خزر *P. maeoticus* با میانگین طولی ٢/٣٧± ٨/٤٠ میلی‌متر و میانگین وزنی ١/٠٢٧٦± ٠/٧٨٣گرم در بهار ١٣٩٧ از سواحل شنی جنوبی دریای‌خزر واقع در منطقه میرود در بابلسر به وسیله تور دستی دارای مش با اندازه یک سانتی‌متر جمع‌آوری و در ظروف پلاستیکی حاوی آب دریا به آزمایشگاه دانشکده علوم دریایی دانشگاه مازندران منتقل گردید. قبل از شروع آزمایش به منظور سازگاری با شرایط محیطی جدید، گاماروس‌ها به مدت یک هفته در شرایط آزمایشگاهی (١٦ ساعت روشنایی و ٨ ساعت تاریکی؛ دمای آب ٠/٠/٥٣±٢١ درجه سانتی‌گراد؛ هوادهی با استفاده از پمپ هوادهی) و در ظروف پلاستیکی حاوی یک لیتر آب صاف شده دریا (به منظور جداسازی مواد جامد معلق در آب دریا به وسیله صافی توری پارچه‌ای و سپس عبور از کاغذ صافی اندازه ٥٨ × ٥٨ سانتی متر صاف شد) نگهداری شدند. در طول این مدت، آب ظروف را یک روز در میان با آب تازه صاف شده دریا تعویض

www.SID.ir

Archive of SID

کرده تا گاماروس‌ها در معرض میزان کافی اکسیژن و مواد مغذی موجود در آب دریا قرار گیرند. در طی دوره سازگاری گاماروس‌ها هر ٤٨ ساعت یکبار با سیب زمینی پخته به مقدار ١ گرم برای هر ظرف تغذیه شدند.

٢-٢ آماده‌سازی محلول نانوذرات نقره

محلول نانوذرات نقره ٩٨ درصد (Nanomaterials Inc, USA) با غلظت ٤٠٠٠ میلی‌گرم بر لیتر و اندازه ذرات ٨-٥ نانومتر از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان مشهد خریداری شد. غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر روی دستگاه همزن مغناطیسی بدون حرارت قرار داده شد، تا محلول نسبتا همگنی به دست آید. جهت انحلال بیشتر، بشر محتوی غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره داخل حمام اولتراسونیک قرار داده شد و سپس حجم مشخصی از محلول به وسیله پیپت مدرج جدا شده و به آب دریا اضافه گردید. جهت تعیین غلظت محلول‌های نانوذرات نقره استفاده شده در این تحقیق از فرمول زیر استفاده شد:

(غلظت C_2 = (حجم محلول اولیه)V_1 × (غلظت محلول اولیه)C_1
(حجم محلول مورد نظر)V_2× محلول مورد نظر)

٢-٣ آماده‌سازی محلول نیترات نقره

در تحقیق حاضر از پودرکریستاله نیترات نقره ٩٩ درصد (شرکت پردیس آرمان شیمی، ایران) استفاده شد. جهت تهیه محلول استوک یا ذخیره ١ گرم از پودر نیترات نقره را به وسیله ترازو (OHAUS PA214, Swiss) با دقت ٠/٠٠٠١ گرم وزن شد و در ١٠٠ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه حل گردید و به مدت ١ دقیقه بر روی دستگاه همزن مغناطیسی بدون حرارت قرار داده شد و سپس جهت انحلال کامل در حمام اولتراسونیک گذاشته شد. سپس جهت تهیه محلول‌هایی با غلظت‌های برابر با غلظت نانوذرات نقره با استفاده از پیپت مدرج مقدار مورد نیاز از محلول استوک جدا و به آب دریا اضافه گردید.

٢-٤ تعیین محدوده کشندگی نانوذرات نقره

در مطالعه حاضر جهت یافتن غلظت میانه‌کشندگی (LC_{50}) نانوذرات نقره برای گاماروس، ابتدا آزمایش تعیین محدوده کشندگی (Rang Finding Test) در ١٤ تیمار شامل ٤٥ عدد گاماروس در هر تیمار با غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره شامل ٠، ٠/٠٤، ٠/١، ٠/٢، ١، ٢، ٣، ٤، ٥، ١٠، ٢٠، ٤٠، ٥٠، ١٠٠ میلی‌گرم بر لیتر به روش ساکن و براساس دستورالعمل O.E.C.D. (TRC, 1984) انجام شد. برای انجام این آزمایش، ٢٤ ساعت قبل از آزمایش تغذیه گاماروس‌ها متوقف شد. میزان مرگ و میر گاماروس‌ها در هریک از غلظت‌های نانوذرات نقره در مدت زمان‌های٢٤، ٤٨، ٧٢ و ٩٦ ساعت ثبت و گاماروس‌های تلف شده از تیمارهای مورد آزمایش خارج شدند.

٢-٥ تعیین غلظت میانه‌کشندگی (LC_{50}) نانوذرات نقره و نیترات نقره

پس از تعیین محدوده کشندگی، آزمایش تعیین غلظت میانه کشندگی (LC_{50}) نانوذرات نقره و نیترات نقره به روش ساکن و مطابق دستورالعمل O.E.C.D. انجام شد. گاماروس‌ها در ٧ تیمار با تعداد ٣٠ گاماروس در هر تیمار با غلظت‌های ٠، ٠/٢٥، ٠/٥، ١ ، ٢ ، ٤ و ٨ میلی‌گرم بر یک لیتر نانوذرات نقره و نیترات نقره به طور جداگانه در سه تکرار تقسیم شدند. در مدت ٢٤ ، ٤٨ ، ٧٢ و ٩٦ ساعت مرگ و میر هر تیمار ثبت و گاماروس‌های تلف شده خارج شدند. در مدت آزمایش خواص فیزیکوشیمیایی آب شامل میزان اکسیژن محلول، شوری، دمای آب و pH با استفاده از دستگاه مولتی پارامترسنج (Tiwan,AZ8603) اندازه‌گیری شدند.

٢-٦ تجزیه و تحلیل داده‌ها

ابتدا مدل رگرسیونی بین غلظت در معرض قرارگیری و درصد مرگ و میر برای هر یک از زمان‌های در معرض قرارگیری در نرم‌افزار اکسل بدست آمد. سپس آزمایش سمیت حاد با استفاده از روش پروبیت در سطح آماری ٩٥ درصد تجزیه و تحلیل شدند. محدوده و غلظت کشندگی (LC25, LC50, LC75, LC90) با استفاده از نرم افزار MedCalc محاسبه شد. اثر زمان و غلظت بر تعداد مرگ و میر با استفاده مدل خطی تعمیم یافته و با استفاده از نرم افزار آماری R نسخه ١. ٥ . ٣ تعیین گردید. مقادیر LC25, LC50, LC75, LC90، همچنین حداکثر غلظت مجاز (MAC) یا غلظت غیرموثر (NOEC) نانوذرات نقره و نیترات نقره در این تحقیق تعیین شد.

www.SID.ir

Archive of SID

۳. نتایج و بحث

۳-۱ میزان نقره در آب و گاماروس جمع آوری شده از دریای خزر قبل از شروع آزمایش

میزان نقره در آب دریای خزر ۰/۰۱±۰/۰٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است.

۳-۲ تعیین محدوده کشندگی نانوذرات نقره

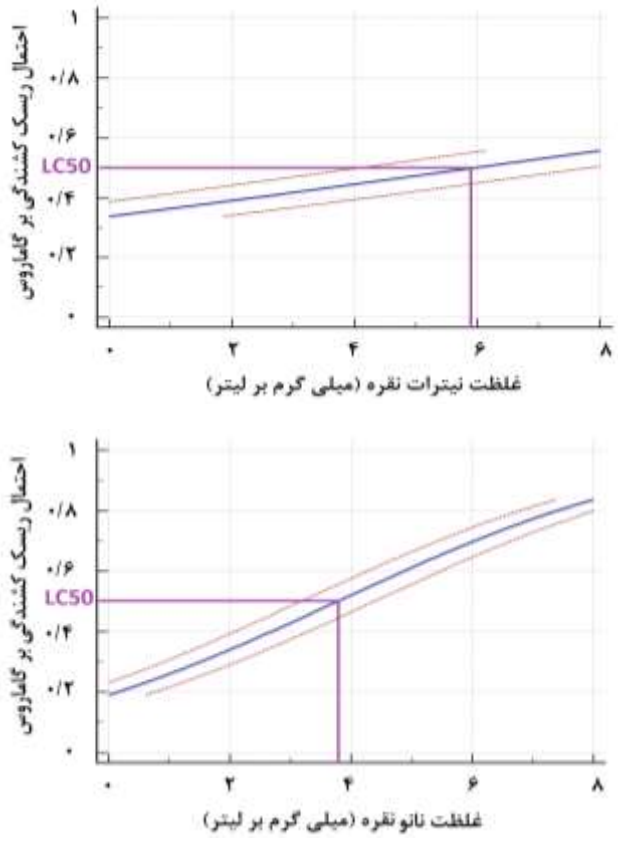
نتایج حاصل از آزمایش تعیین محدوده کشندگی نشان داد با افزایش غلظت نانو ذرات نقره در طی مدت زمان ٢٤ تا ٩٦ ساعت میزان مرگ و میر گاماروس‌ها افزایش پیدا کرد. بر اساس مرگ و میر گاماروس‌ها در غلظت‌های ۰، ۰/۰٤، ۰/۱، ۰/۲۵، ۱، ۵، ۱۰، ۲۰، ٤۰، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، محدوده کشندگی نانوذرات نقره برای گاماروس‌ها در این مطالعه بین ۰/۲ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر انتخاب شد، زیرا میانه کشندگی (۵۰ درصد کشندگی) در غلظت کمتر از ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در طی مدت زمان ٩٦ ساعت رخ داد (جدول ۱).

جدول ۱: تعداد مرگ و میر گاماروس *P. maeoticus* در آزمایش تعیین محدوده کشندگی (n=۴۵)

غلظت نانونقره	تعداد مرگ و میر گاماروس‌ها			
(میلی‌گرم بر لیتر)	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
۰	۰	۱	۰	۰
۰/۰۴	۰	۰	۱	۱
۰/۱	۱	۱	۲	۲
۰/۲	۱	۲	۴	۵
۱۰	۵	۱۸	۲۷	۳۵
۲۰	۱۰	۲۰	۲۸	۴۱
۵۰	۳	۱۸	۴۵	۴۵
۱۰۰	۸	۳۰	۴۵	۴۵

۳-۳ تعیین غلظت میانه کشندگی (LC50) نانوذرات نقره و نیترات نقره

برای تعیین غلظت میانه کشندگی، گاماروس‌ها در معرض غلظت‌های ۰، ۰/۲۵، ۱، ۲، ٤ و ۸ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره و نیترات نقره قرار گرفتند. درصد مرگ و میر گاماروس‌ها در زمان‌های ٢٤، ٤٨، ٧٢ و ٩٦ ساعت نانوذرات نقره و نیترات نقره به ترتیب در جداول ۲ و ۳ آورده شده است. احتمال رسیک غلظت کشندگی و غلظت میانه کشندگی (LC50) در ٩٦ ساعت برای نانو ذرات نقره ۳/۷۷ میلی‌گرم بر لیتر و برای نیترات نقره ۵/۷۸ میلی‌گرم بر لیتر با استفاده از نرم افزار MedCalc براساس داده‌های بدست آمده از آزمایشات تحقیق حاضر محاسبه و ترسیم گردید (شکل ۱ و جدول ٤) و حداکثر غلظت مجاز (MAC) یا غلظت غیرموثر (NOEC) که مقدار آن معادل ۱۰٪ غلظت میانه کشندگی (LC50) در مدت ٩٦ ساعت در آب دریای خزر می‌باشد، به ترتیب ۰/۰٤ و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد.



شکل ۱: احتمال ریسک غلظت کشندگی و غلظت میانه کشندگی (LC50) نانوذرات نقره و نیترات نقره در گاماروس در مطالعه حاضر

جدول ۲: درصد مرگ و میر *P. maeoticus* در آزمایش تعیین غلظت میانه کشندگی نانوذرات نقره (n=۳۰)

غلظت نانوذرات نقره	درصد مرگ و میر			
(میلی‌گرم بر لیتر)	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
۰	۰	۰	۰	۰
۰/۲۵	۰	۰	۱/۱۱	۳/۳۳
۰/۵	۷/۷۷	۱۰	۱۴/۴۴	۲۱/۱۱
۱	۱۱/۱۱	۱۶/۶۷	۳۳/۳۳	۴۸/۸۹
۲	۱۱/۱۱	۱۷/۷۸	۳۸/۸۹	۴۹/۹۳
۴	۱۱/۱۱	۲۱/۱۱	۴۴/۴۴	۶۰
۸	۱۰	۱۵/۵۶	۴۲/۲۲	۶۷/۷۸

www.SID.ir

Archive of SID

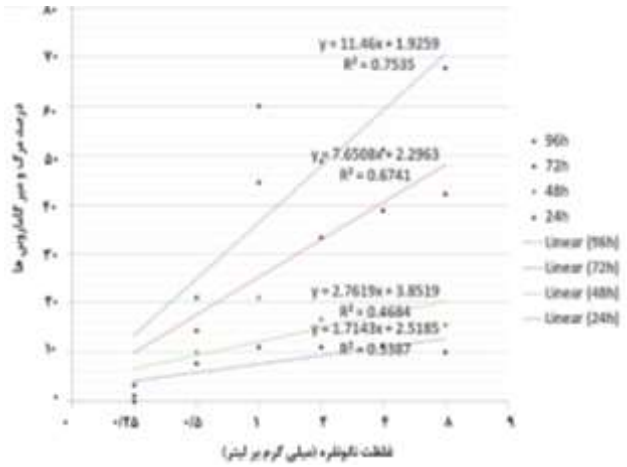
جدول ۳: درصد مرگ و میر *P. maeoticus* در آزمایش تعیین غلظت میانه کشندگی نیترات نقره (n=۳۰)

غلظت نیترات نقره (میلی‌گرم بر لیتر)	درصد مرگ و میر			
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
۰	۰	۰	۰	۰
۰/۲۵	۱/۱۱	۱۲/۲۲	۲۷/۷۸	۴۳
۰/۵	۵/۵۶	۱۴/۴۴	۲۲/۲۲	۳۹
۱	۲/۲۲	۱۴/۶۷	۲۷/۷۸	۴۹
۲	۳/۳۳	۲۰	۴۰	۴۸
۴	۱/۱۱	۲۳/۳۳	۴۱/۱۱	۵۰
۸	۶/۶۷	۱۶/۴۴	۳۷/۷۸	۵۰

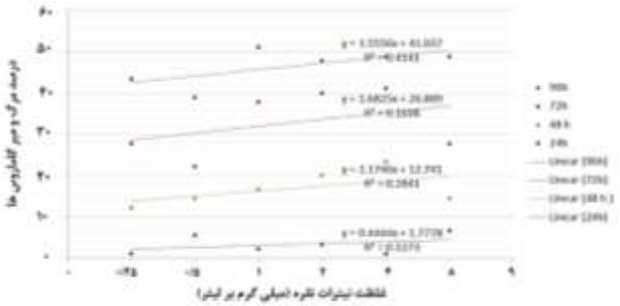
جدول ۴: غلظت کشندگی نانوذرات نقره و نیترات نقره بر گاماروس‌های دریای خزر طی ۹۶ ساعت در مطالعه حاضر

	غلظت کشندگی (میلی‌گرم بر لیتر)	
	نانونقره	نیترات نقره
LC25	۰/۸۶	۰/۱۷
LC50	۳/۷۷	۵/۷۸
LC75	۶/۶۹	۱۱/۳۹
LC90	۹/۳۱	۱۶/۴۴

نتایج همبستگی بین غلظت نانوذرات نقره و درصد مرگ و میر گاماروس‌ها در طی ۹۶ ساعت نشان داد هر چه غلظت نانوذرات نقره بیشتر باشد، درصد مرگ و میر افزایش می‌یابد. همچنین رابطه همبستگی بین غلظت نانوذرات نقره در محلول آبی و درصد مرگ و میر گاماروس‌هایی که در معرض زمان‌های بیشتر (۷۲ و ۹۶ ساعت) قرار گرفتند، قوی تر و معنی‌دار بوده است (شکل ۲). نتایج مشابه اما با همبستگی ضعیف‌تری در زمان ۹۶ ساعت بین غلظت نیترات نقره و درصد مرگ و میر گاماروس‌ها نیز مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۲: همبستگی بین غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره و درصد مرگ و میر گاماروس‌ها در زمان‌های مختلف درمعرض قرارگیری



شکل ۳: همبستگی بین غلظت‌های مختلف نیترات نقره و درصد مرگ و میر گاماروس‌ها در زمان‌های مختلف درمعرض قرارگیری

ورود نانوذرات به بوم‌سازگان آبی می‌تواند مضرات زیادی بر روی موجودات آبزی داشته باشد. ورود آلاینده‌های فلزی به خصوص نانوذرات فلزی سبب مختل شدن کارکرد سطوح مختلف زیستی در بوم‌سازگان آبی می‌گردد (Handy et al., 2008). آزمایش سمیت حاد اولین اقدام جهت تعیین اثرات آلاینده‌ها است که با بهره‌گیری از باکتری‌ها، بی‌مهرگان و ماهی‌ها جهت نشان دادن پتانسیل خطر این ترکیبات شیمیایی در بوم‌سازگان آبی انجام می‌شود (Yilmaz et al., 2004).

در مطالعه حاضر نتایج آزمایش سمیت حاد نشان داد، گاماروس‌های دریای‌خزر در مواجهه با غلظت‌های ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ٤ و ۸ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره و محلول نیترات نقره به مدت ۹٦ ساعت، با افزایش غلظت نانوذرات نقره و نیترات نقره و همچنین افزایش مدت زمان مواجهه درصد مرگ و میر بیشتری داشتند. افزایش کشندگی با افزایش مدت زمان مواجهه و افزایش غلظت ماده سمی، دور از انتظار نیست و با نتایج گزارش شده در مطالعات دیگر در زمینه بررسی سمیت حاد سموم مختلف بر موجودات زنده مطابقت دارد (اعتماد زاده و همکاران، ۱۳۹۵ ; صادقی و همکاران، ۱۳۹٦;Zhao and Wang, 2011).

بررسی سمیت نانوذرات نقره بر آرتمیا (*Artemia urmiana*) نشان داد، میزان بازماندگی این جانور با افزایش غلظت نانوذرات نقره، کاهش یافت و افزایش مدت زمان در معرض قرارگیری موجب افزایش میزان مرگ و میر به ویژه در تیمار با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره شد (محمدی و همکاران، ۱۳۹۵). قابلیت نفوذ نانو ذرات به دیواره سلولی و عبور از آن و در نتیجه انباشتگی آن‌ها در بدن موجودات زنده ارتباط زیادی با غلظت و زمان مواجهه با نانوذرات دارد (Wang & Fisher, 1996).

www.SID.ir

Archive of SID

کمتر بودن غلظت میانه‌کشندگی (LC50) نانونقره (۳/۷۷ میلی‌گرم بر لیتر) در مقایسه با نیترات نقره (۵/۷۸ میلی‌گرم بر لیتر) می‌تواند به ویژگی‌های فیزیکی ذرات نانو مرتبط باشد. نانوذرات با توجه به شکل و اندازه می‌توانند بر سدهای فیزیولوژیکی غلبه کرده و با عبور از آن‌ها و تجمع در بافت‌ها مضرات خود را نشان دهند. همچنین ذرات در اندازه نانو تمایل زیادی به ایجاد پیوند و تراکم دارند که با افزایش میزان انرژی مغناطیسی این ویژگی در آن‌ها افزوده می‌شود. این خاصیت نانوذرات منجر به رسوب این ذرات شده و نتیجه آن می‌تواند انسداد عروق در بدن موجودات زنده باشد (Neuberger et al., 2005). نانو ذرات تمایل زیادی به کاهش بار سطحی و تجمع در محیط زیست دارند و ممکن است با اتصال به ذرات طبیعی، مورد تغذیه موجودات زنده قرار گرفته و وارد زنجیره غذایی شوند (Zhu et al., 2012). وجود نانوذرات فلزی در محیط‌های آبی می‌تواند باعث پراکسید شدن چربی‌های غشای سلولی در ماهیان و سایر موجودات آبزی شود (Gambardella et al., 2014).

به نظر می‌رسد نانوذرات نقره مانند سایر مواد سمی می‌تواند منجر به هم ریختن تعادل در تنظیمات یونی موجودات زنده شود (Griffitt et al., 2009). از دیگر عوارض نانو مواد، هایپرپلازی آبششی و در نهایت هایپوکسی موجودات آبزی، تخریب ساختار نوکلئیک اسیدها و تغییر در بیان ژن می‌باشد (Griffitt et al., 2007; Yeo & Kang, 2008; Lee et al., 2007).

ورود نانوذرات به اکوسیستم‌های آبی، بازماندگی و پویایی جمعیت آبزیان و در نهایت پایداری منابع آبی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Bilberg et al., 2012). همچنین مشخص شده است که قرارگیری موجودات آبزی به مدت طولانی در معرض انواع سموم به ویژه نانوذرات، می‌تواند منجر به اختلال در روند رشد و تولیدمثل آنها شود (Manfra et al., 2012).

در مطالعه‌ای اثر سمیت نانوذرات نقره بر روی چهارگونه ماهی پرورشی و آکواریومی آمور (*Ctenopharyngodom idella*)، شیربت (*Barbus grypus*)، اسکار (*Astronorus ocellatus*) و سوروم (*Cichlosoma severums*) بررسی شد و میزان LC_{50} به ترتیب برابر ۰/۱۲، ۰/۰۸۶، ٦/٨٥ و ۷/۸۹ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد (Alishahi et al., 2009). ایجاد ۵۰ درصد تلفات در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نیز در برابر نانوذرات نقره غلظتی حدود ۵ میلی‌گرم در لیتر به دست آمده است (Soltani et al., 2009).

تحقیقات نشان داده است، غلظت میانه‌کشندگی نانوذرات نقره در دافنی ماگنای بالغ (*Daphnia magna*) در مدت زمان ٢٤ ساعت، ۰/٤١٦ میلی‌گرم در لیتر (اعتمادزاده و همکاران، ۱۳۹۵) و در بارناکل (*Amphibalanus Amphitrite*) ۰/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر (Falugi et al., 2012) بوده است که نسبت به غلظت میانه‌کشندگی نانونقره (۳/۷۷ میلی‌گرم بر لیتر) در گاماروس‌های دریای خزر در مطالعه حاضر غلظت کمتری می‌باشد و این می‌تواند نشان دهنده سمیت بالای نانوذرات نقره بر جمعیت دافنی‌ها و بارناکل‌ها در مقایسه با گاماروس‌های دریای خزر باشد.

۴. نتیجه‌گیری

براساس نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر، مدت زمان مواجهه و افزایش غلظت نقره دو عامل اصلی و مهم در افزایش درصد مرگ و میر گاماروس‌ها می‌باشد. هچنین غلظت میانه‌کشندگی (LC_{50}) نانوذرات نقره در مقایسه با نیترات نقره کمتر می‌باشد و به عبارتی سمیت حاد نانونقره برای گاماروس‌ها در آب دریای‌خزر بیشتر از سمیت حاد نیترات نقره است.

نتایج تحقیق حاضر می‌تواند در زمینه تاثیر آلاینده‌های فلزی مانند نانو ذرات نقره در بوم‌سازگان آبی مورد استفاده قرار گیرد و حاکی از آن است که ورود انواع آلاینده‌ها به ویژه نانو ذرات به بوم‌سازگان آبی می‌تواند جمعیت آبزیان مختلف را تحت تاثیر قرار دهد و تجمع این ترکیبات در بدن آبزیان سبب انتقال آن در طی زنجیره غذایی به سطوح بالاتر خواهد شد.

منابع

اعتمادزاده، م.؛ قربانی، ر.؛ هدایتی، ع.ا.؛ هرسیج، م؛ و کشیری، ح.، ۱۳۹۵. تعیین سمیت کشنده نانو ذرات نقره روی دافنی ماگنای بالغ (*Daphnia magna*). مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان، سال پنجم، شماره ۱، صفحات ٥٦-٤٧.

رزم آرا، پ.؛ درافشان، س.؛ پیکان حیرتی، ف.؛ طالبی، م؛ و رنجبر، م.، ۱۳۹۲. اثر نانوذرات نقره کلوئیدی و نیترات نقره محلول در آب بر تغییرات بافتی آبشش گربه ماهی رنگین کمان *Pangasianodon hypophthalmus*. مجله بوم‌شناسی آبزیان، سال سوم، شماره ۳، صفحات ۱۸-۱۰.

روشنایی، ک.؛ رضویان، م.ح.؛ احمدی، ر.؛ حیدریه، ن.؛ و مساعی منش،

www.SID.ir

Archive of SID

م.ب.، ۱۳۹۱. اثر نانو نقره خوراکی بر عوامل خونی، هورمونی و ادراری رت‌های صحرایی، نژاد ویستار. مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، سال سوم، شماره ٦، صفحات ٦٥-٧٠.

سالاری جو، ح.؛ کلباسی، م.ر.؛ جوهری، س.ع.، ۱۳۹۱.تاثیر شوری آب بر سمیت حاد نانو ذارت نقره کلوئیدی در بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله سلامت و محیط، دوره پنجم، شماره اول، صفحات ۱۲۱-۱۳۲.

شبرهنگ هره دشت، م.؛ و میرواقفی، ع.، ۱۳۹۱. کاربردهای نانوذرات در پرورش، صید و فرآوری آبزیان. ماهنامه فناوری نانو، سال یازدهم، شماره ٦، صفحات ۱۵-۱۳.

عطاران، آ؛ جوانشیر خویی، آ؛ اصلاحی‌نژاد، آ؛ لک، ر و ایگدری، س (۱۳۹۵). مقایسه جذب زیستی توسط (*Gammarus* sp.) و غیر زیستی (رسوب ماسه ای) کادمیوم در ساحل دریای خزر. مجله منابع طبیعی ایران، دوره ٦٩، شماره، صفحات ۷۹۱-۸۰۲.

عظیمی،ع.؛ حسینی، س.ع.؛ سوداگر، م.؛ اصلان پرویز، ح.، ۱۳۹۰. اثر جایگزینی پودر گاماروس با بخشی از پودر ماهی کیلکای دریای خزر بر عملکرد رشد، ضریب تبدیل غذایی و بقاءبچه ماهیان قزال آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، دوره ۲۰، شماره ۳ (مسلسل ٧٦)، صفحات ٦٣-٧٤.

صادقی، ف.؛ یوسف‌نژادی، م.؛ و مشجور، س.، ۱۳۹٦. بررسی سمیت نانوذرات نقره کلوئیدی در لارو بارناکل *Amphibalanus Amphitrite* . مجله علمی پژوهشی زیست‌شناسی دریا، سال نهم، شماره ۳۳، صفحات ۱۰-۱.

محمدی، ش.؛ سروی مغانلو، ک.؛ و آتشیار، ب.، ۱۳۹۵. مطالعه اثرات مزمن ذرات نقره بر رشد، بازماندگی و ویژگی‌های تولیدمثلی آرتمیای ارومیه (Artemia urmiana). مجله علمی شیلات، سال بیست و پنجم، شماره ٤، صفحات ٧٥-٦٣.

مشجور، س.؛ علیشاهی، م.؛ و طولایی دزفولی، ز.، ۱۳۹٦. مقایسه سمیت نانو ذرات نقره تولید شده به روش شیمیایی و زیستی بر مراحل ناپلیوس و بالغ *Artemia franciscana*. فصلنامه علمی پژوهشی زیست‌شناسی جانوری، سال نهم، شماره ٤، صفحات ۹۱-۱۰۵.

Alishahi, M., Mesbah, M., Gorbanpoor, M. 2009. Study of nanosilver toxicity if four species of fish. International Journal of Iran Veterinary, 7: 37-42.

Alonso, Á., De Lange, H. J., Peeters, E. T. 2010. Contrasting sensitivities to toxicants of the freshwater amphipods Gammarus pulex and G. fossarum. Ecotoxicology, 19(1): 133.

Al-Weher, S. M. 2008. Levels of heavy metal Cd, Cu and Zn in three fish species collected from the Northern Jordan Valley, Jordan. Jordan Journal of Biological Sciences, 1(1): 41-46.

Aschberger, K., Micheletti, C., Sokull-Klüttgen, B., Christensen, F. M. 2011. Analysis of currently available data for characterising the risk of engineered nanomaterials to the environment and human health—lessons learned from four case studies. Environment international, 37(6): 1143-1156.

Bar-Ilan, O., Albrecht, R. M., Fako, V. E., Furgeson, D. Y. 2009. Toxicity assessment of multisized gold and silver nanoparticles in zebra fish embryos. International Journal of Small, 5: 1897-1910.

Bernhardt, E. S., Colman, B. P., Hochella, M. F., Cardinale, B. J., Nisbet, R. M., Richardson, C. J., Yin, L. 2010. An ecological perspective on nanomaterial impacts in the environment. Journal of environmental quality, 39(6): 1954-1965.

Bilberg, K., Hovgaard, M. B., Besenbacher, F., Baatrup, E. 2012. In vivo toxicity of silver nanoparticles and silver ions in zebrafish (Danio rerio), Journal of toxicology.

Daughton, C. G. (2004). Non-regulated water contaminants: emerging research. Environmental Impact Assessment Review, 24(7-8):711-732.

De Mora, S., Fowler, S. W., Wyse, E., Azemard, S. 2004. Distribution of heavy metals in marine bivalves, fish and coastal sediments in the Gulf and Gulf of Oman. Marine pollution bulletin, 49 (5-6): 410-424.

Durán, N., Marcato, P. D., De Souza, G. I., Alves, O. L., Esposito, E. 2007. Antibacterial effect of silver nanoparticles produced by fungal process on textile fabrics and their effluent treatment. Journal of biomedical nanotechnology, 3(2): 203-208.

www.SID.ir

Archive of SID

Visualized Experiments, (62): p.e3790.

Marambio-Jones, C., Hoek, E. M. 2010. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. Journal of Nanoparticle Research, 12(5): 1531-1551.

Masouleh, F. F., Amiri, B. M., Mirvaghefi, A., Ghafoori, H., & Madsen, S. S. 2017. Silver nanoparticles cause osmoregulatory impairment and oxidative stress in Caspian kutum (Rutilus kutum, Kamensky 1901). Environmental Monitoring and Assessment, 189(9), 448.

McShan, D., Ray, P. C., Yu, H. 2014. Molecular toxicity mechanism of nanosilver. Journal of food and drug analysis, 22(1): 116-127.

Midander, K., Cronholm, P., Karlsson, H. L., Elihn, K., Möller, L., Leygraf, C.,Wallinder, I. O. 2009. Surface characteristics, copper release, and toxicity of nano- and micrometer- sized copper and copper (II) oxide particles: a cross- disciplinary study. Small, 5(3): 389-399.

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., Behra, R. 2008. Toxicity of silver nanoparticles to Chlamydomonas reinhardtii. Environmental science & technology, 42(23): 8959-8964.

Neuberger, T., Schopf, B., Hofmann, H., Hofmann, M.,Von Rechenberg, B. 2005. Superparamagnetic nanoparticles for biomedical application: possibilities and limitations of a new drug delivery system. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 293(1): 483-496.

Perera, S., Bhushan, B., Bandara, R., Rajapakse, G., Falugi, C., Aluigi, M. G., Chiantore, M. C., Privitera, D., Ramoino, P., Gatti, M. A., Matranga, V. 2012. Toxicity of metal oxide nanoparticles in immune cells of the sea urchin. Marine environmental research, 76: 114-121

Gambardella, C., Mesarič, T., Milivojević, T., Sepčić, K., Gallus, L., Carbone, S., Faimali, M. 2014. Effects of selected metal oxide nanoparticles on Artemia salina larvae: evaluation of mortality and behavioural and biochemical responses. Environmental monitoring and assessment, 186(7): 4249-4259.

Griffitt, R. J., Hyndman, K., Denslow, N. D., & Barber, D. S. 2009. Sources fate and effects of engineered nanomaterials in the aquatic environment. Toxicological Science, 107: 404-412.

Handy, R.D., Henry, T.B., Scown, T.M., Johnston, B.D., Tyler, C.R. 2008. Manufactured nanoparticles: their uptake and effects on fish-a mechanistic analisis. Ecotoxicology, 175: 369 409.

Kreyling, W. G., Semmler-Behnke, M., & Chaudhry, Q. 2010. A complementary definition of nanomaterial. Nano today, 5(3): 165-168.

Kumar, R., Howdle, S., Münstedt, H. 2005. Polyamide/silver antimicrobials: effect of filler types on the silver ion release. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of the Society for Biomaterials, the Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 75(2): 311-319.

Lee, K.J., Nallathhamby, P.D., Browning, L.M., Osgood, C.J., Xu, X.H.N. 2007. In vivo imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of zebrafish embryos. ACS Nano, 1(2): 133-143.

Manfra, L., Savorelli, F., Pisapia, M., Magaletti, E. Cicero, A.M. 2012. Long-term lethal toxicity test with the crustacean Artemia franciscana. Journal of

www.SID.ir

Archive of SID

TRC. 1984. OECD Guideline for testing if chemical, Section 2, Effects on biotic systems. OECD, 39.

Wang, W. X., Fisher, N. S., Luoma, S. N. 1996. Kinetic determination of trace element bioaccumulation in the mussel Mytilus edulis. Marine Ecology Progress series, 140: 91-11

Warheit, D. B., Laurence, B. R., Reed, K. L., Roach, D. H., Reynolds, G. A., & Webb, T. R. (2004). Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. Toxicological sciences, 77(1): 117-125.

Yeo, M. K., Kang, M. S. 2008. Effects of nanometer sized silver materials on biological toxicity during zebrafish embryogenesis. Bulletin of the Korean Chemical Society, 29(6): 1179-1184.

Yılmaz, M., Gül, A., Karaköse, E. 2004. Investigation of acute toxicity and the effect of cadmium chloride (CdCl2· H2O) metal salt on behavior of the guppy (Poecilia reticulata). Chemosphere, 56(4): 375-380.

Zhao, C. M.,Wang, W. X. 2011. Comparison of acute and chronic toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate to Daphnia magna. Environmental Toxicology and Chemistry, 30(4): 885-892.

Zhu, X., Tian, S., Cai, Z. 2012. Toxicity assessment of iron oxide nanoparticles in zebra fish (Danio rerio) early life stages. PLoS One, 7(9): e46286.

Rajapakse, S., & Bandara, C. 2013. Morphological, antimicrobial, durability, and physical properties of untreated and treated textiles using silver-nanoparticles. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 436: 975-989.

Rather, M. A., Sharma, R., Aklakur, M., Ahmad, S., Kumar, N., Khan, M.,Ramya, V. L. 2011. Nanotechnology: a novel tool for aquaculture and fisheries development. A prospective mini-review. Fisheries and Aquaculture Journal, 16(1-5): 3.

Ratte, H. T. 1999. Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: a review. Environmental Toxicology and Chemistry, 18(1): 89-108.

Shirvani, F., Arabi, M., NooriDiziche, A. 2013. Evaluation of oxidative stress biomarkers and acetylcholinesterase activity in Gammarus pseudosyriacus exposed to nanosilver. Journal of Pharmaceutical and Health sciences, 2(1): 39-44.

Soltani, M.; Torabzadeh, N.; Soltani, A. 2009. Toxicity of nano silver suspension (nanocide in Rainbow trout). The first International Congress on Aquatic Animal Health Management and Disease, 170p.

Tang, J., Xiong, L., Wang, S., Wang, J., Liu, L., Li, J., Xi, T. 2009. Distribution, translocation and accumulation of silver nanoparticles in rats. Journal of nanoscience and nanotechnology, 9(8): 4924-493.

www.SID.ir