

## ارزیابی مقایسه‌ای سمیت نانوذرات نقره شیمیایی و بیوسنتز شده توسط دو گونه ماکرو جلبک دریایی در شاخص زیستی آرتمیا

سکینه مشجور<sup>۱</sup>، مجتبی علیشاهی<sup>۲</sup>، زهرا طولابی دزفولی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان  
<sup>۲</sup>گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

(دریافت مقاله: ۴ مهر ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۶ آذر ماه ۱۳۹۷)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** نظر به گرایش فزاینده به استفاده از نانو مواد مختلف در سطح جهان و راه یابی نهایی آن‌ها به اکوسیستم‌های آبی، سنجش سمیت آن‌ها بر محیط زیست آبیان و ارائه راهکارهای زیست سازگار در تولید آن‌ها، ضروری به نظر می‌رسد.

**هدف:** در این راستا در تحقیق حاضر، سمیت نانوذرات نقره شیمیایی و بیوسنتز شده توسط جلبک‌های دریایی با استفاده از نشانگر زیستی آلودگی، ناپلیوس آرتمیا (*Artemia fransiscana*) ارزیابی و مقایسه گردید.

**روش کار:** به این منظور از روش استاندارد OECD استفاده شد. بدین صورت که منظور ناپلی آرتمیا، در غلظت‌های متوالی افزایشی نانوذرات نقره شیمیایی و بیوسنتز شده با استفاده از عصاره آبی دو گونه ماکرو جلبک دریایی *Ulva flexuosa* (جلبک‌های سبز) و *Sargassum boveanum* (جلبک‌های قهوه‌ای) قرار داده شد و تلفات ناپلی‌ها در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ بعد از مجاورت ثبت و با نرم افزار Probit آنالیز گردید.

**نتایج:** نتایج نشان داد که سمیت هر سه نوع نانوذره نقره بر ناپلی آرتمیا با افزایش غلظت و نیز با افزایش مدت زمان مجاورت روند افزایشی داشته و تفاوت‌ها میان آن‌ها معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). بطوریکه  $LC_{50}$  در نانوذرات نقره شیمیایی  $3.1/8$  و در نانوذرات نقره بیوسنتزی از *U. flexuosa* و *S. boveanum* به ترتیب برابر  $366/9$  و  $141/1$  بود.

**نتیجه گیری نهایی:** مقایسه نتایج سمیت این سه نوع نانوذره در ناپلی آرتمیا، نشان داد که در غلظت‌های مشابه، نانوذرات نقره شیمیایی تا ۱۰ برابر سمی‌تر از نانوذرات بیوسنتزی بودند علاوه بر این سمیت نانوذرات نقره بیوسنتز شده توسط جلبک‌های دریایی به نوع جلبک نیز بستگی دارد چرا که نانوذرات نقره بیوسنتز شده توسط *U. flexuosa* در مقایسه با نوع تهیه شده از *S. boveanum* پتانسیل سمیت کمتری را نشان دادند.

**واژه‌های کلیدی:** سمیت، بیوسنتز، نانوذرات نقره، ماکرو جلبک دریایی، آرتمیا فرانسیسکانا

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله تحقیقات دامپزشکی محفوظ است.

(\* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۶۱-۳۳۳۳۰۰۷۲، شماره: ۰۶۱-۳۳۳۶۰۸۰۷، Email: alishahimoj@gmail.com

### How to Cite This Article

Mashjoo, S., Aishahi, M., Tulabi Dezfuli, Z. (2019). Comparative Toxicity Assessment of Chemical Nanosilver and Biosynthetic Silver Nanoparticles Produced by Marine Macroalgae from the Persian Gulf in Biomarker: Artemia nauplii. J Vet Res, 74(1), 73-82. doi: 10.22059/jvr.2018.208479.2484



## مقدمه

فن آوری نانو با کاهش اندازه مواد در ابعاد  $1\text{ nm}$  تا  $100\text{ nm}$ ، منجر به ایجاد خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی متفاوتی می شود که این امر کاربردهای جدید و منحصر به فردی را برای نانو مواد امکان پذیر می سازد (۱۹). افزایش و گسترش استفاده از نانو-ذرات در علوم و تکنولوژی در دهه های اخیر در حوزه هایی چون پزشکی، کشاورزی، الکترونیک، صنعت، داروسازی، تولیدات آرایشی بهداشتی، انرژی های تجدیدپذیر، تصفیه محیط زیست و غیره (۱۰)، اهمیت و ضرورت درک اثرات زیان آور احتمالی آن ها بر انسان و اکوسیستم را دو چندان ساخته است. امروزه نانو ذرات مهندسی شده (ENPs: Engineered nanoparticles) بعنوان یک گروه جدید از آلاینده ها با درجه اهمیت بوم سم شناسی (Ecotoxicology) برای اکوسیستم های دریایی معرفی شده اند، زیرا ورود آن ها به خاک و نهایتاً مسیرهای آبی منتهی به دریاها و اقیانوس ها امری اجتناب ناپذیر است (۱۷). از این رو نظر به کمبود اطلاعات و داده ها در ارتباط با پتانسیل اثرات منفی این ذرات در مقیاس نانو بر اکوسیستم های دریایی، بواسطه طبیعت فیزیکی و شیمیایی و متعاقباً تأثیرپذیری سرنوشست، رفتار و سمیت آن ها از دیگر پدیده های زیستی (۲۴)، لزوم درک این فرآیندها و طرح سوالات جدی در ارتباط با خطرات آبی آن ها، بسیار حائز اهمیت است. بعلاوه ایران در چند سال اخیر پیشرفت های شگرفی در زمینه علم نانو تکنولوژی داشته است، بنحویکه توانسته در سال ۲۰۱۳ رتبه ۸ را در سطح جهانی در زمینه تولید علم نانو کسب نماید از این رو جای بسی امید است که در امر شناسایی و حذف آلاینده های زیست محیطی تولید شده توسط این حوزه تحقیقاتی نیز با بهره از تکنیک های روز دنیا بتوان پیش گام بود.

نانوذرات نقره، با کاربرد در ۳۸۳ محصول و میانگین تولید جهانی ۵۵ تن در سال، جزء پر مصرف ترین نانومواد ساخت دست بشر هستند (۲۶). بیشترین کاربرد نانوذرات نقره مبتنی بر خواص ضد میکروبی قوی آن ها بر پاتوژن هایی چون باکتری ها و ویروس ها است (۱۱، ۴)، که باعث گردیده در تولیدات مختلفی چون، شوینده ها، پوشاک، کفش، افزودنی های غذایی، مواد آرایشی، تنفسی، فیلترهای تصفیه، تلفن همراه، لپ تاپ و غیره کاربرد داشته باشد (۳۶). تولید نانوذرات نقره نیز به روش های فیزیکی، شیمیایی و زیستی امکان پذیر است (۲۷، ۱۴، ۲). لکن نانوذرات تولیدی در روش های شیمیایی و فیزیکی به دلیل استفاده از مواد شیمیایی سمی مانند سدیم، نیترات سدیم و الکل که نقش عوامل احیایی و تثبیت کننده را ایفا می کنند (۳۲)، علاوه بر آتش زا بودن، در طبیعت به صورت تجزیه ناپذیر باقی مانده و نهایتاً آلودگی های محیط زیست را به دنبال دارند. از این رو نظر به مشکلات و برخی معایب زیست محیطی احتمالی در امر تولید نانوذرات نقره، توسعه روش های زیستی سازگار با محیط زیست، مقرون به صرفه و عاری از مواد شیمیایی امری اجتناب ناپذیر بوده و سنتز زیستی نانوذرات نقره با استفاده از میکروارگانیسم ها، قارچ ها، گیاهان و جلبک ها می تواند

رویگرد جایگزین مناسبی محسوب شود (۱۶). در این بین، جلبک ها به ویژه ماکرو جلبک های دریایی در میان دیگر گزینه های زیستی، جایگاه ویژه ای را به خود اختصاص داده اند، زیرا علاوه بر این که در سواحل در فصول رشد به میزان انبوه یافت شده و اهمیت اقتصادی دارند، واجد منابع مهم فیتوشیمیایی از جمله کارتنوئیدها، اسیدهای چرب ضروری، پلی ساکاریدها و مواد معدنی نیز هستند و از توان بالایی نیز برای احیای یون های نقره و تولید نانوذرات پایدار، غیر سمی و ایمن با قابلیت دستکاری برخوردارند (۲۹) که تحقیقات صورت گرفته توسط Rahimi و همکاران در سال ۲۰۱۴ و نیز Yousefzadi و همکاران در سال ۲۰۱۴، ضمن تایید این امر، نشان دادند که ماکرو جلبک های خلیج فارس می توانند کاندیدای مناسبی برای سنتز زیستی نانوذرات نقره با خواص و کاربردهای زیستی باشند (۳۷، ۲۸).

به منظور سمیت سنجی زیستی بسیاری از آلاینده ها از یک سری آزمون های سمیت و غربالگری اولیه در شرایط برون تنی (آزمایشگاهی) استفاده می شود که ضمن هزینه پایین و کوتاهی زمان اجرای آزمون، از حساسیت بالایی نیز برخوردارند. یکی از این روش ها، سنجش اثرات سمیت حاد با استفاده از نشانگر زیستی آرتمیا (میگوی آب شور) است. این سخت پوست در آب های بسیار شور زندگی کرده و با فیلتر کردن غیرانتخابی از ذرات کمتر از  $50\text{ }\mu\text{m}$  تغذیه می کند (۲۳). آرتمیا به عنوان یک نشانگر زیستی آب هایی با درجه شوری بالا در جهان شناخته شده و متعلق به شاخه بندپایان، رده سخت پوستان، زیر رده آبشش پایان، راسته بی پوششان، خانواده Branchiothidae و جنس Artemia است. مراحل لاروی این سخت پوست از حساسیت بالایی در مقابل آلاینده های محیطی و سموم برخوردار است (۸). از این رو در مطالعه حاضر از گونه ای از آرتمیا موسوم به *Artemia franciscana* که یک گونه غیربومی است و به دریاچه مهارلو و دریاچه نوق نیز معرفی شده است، با هدف بررسی مقایسه ای اثرات سمیت بالقوه نانوذرات نقره شیمیایی (تجاری) و بیوسنتزی (تهیه شده از دو گونه ماکرو جلبک دریایی سبز و قهوه ایی در خلیج فارس) استفاده گردید.

## مواد و روش کار

**نانوذرات نقره:** سه نوع نانوذره نقره به مشخصات زیر، در این تحقیق مورد ارزیابی قرار گرفت.

- ۱- کلویید نانوذرات نقره شیمیایی با نام تجاری نانوسید I ۲۰۰۰ (شرکت نانوصب پارس)، که از طریق احیا فوتوشیمیایی محلول نیترات نقره در حضور هیدرازین و آلکیل بنزن سولفونات تولید شده است (۱).
- ۲- نانوذرات نقره بیوسنتزی تهیه شده از عصاره آبی جلبک دریایی *Sargassum boveanum* (جلبک قهوه ای) که در مطالعه حاضر، مطابق بر روش ارائه شده توسط Rahimi و همکاران در سال ۲۰۱۴ ساخته شد (۲۸).

دیونیزه) تهیه و این عصاره با استفاده کاغذ صافی واتمن فیلتر شد. به منظور بیوستنزی نانوذرات نقره، ۱۰ cc از این عصاره آبی جلبکی به ۹۰ cc محلول نیترات نقره ۱ mM اضافه گردیده و این محلول به مدت ۲۴ h در روشنایی در دمای ۲۵°C قرار گرفت. مشاهده تغییر رنگ و تیره شده محلول نشانی از احیای زیستی یون‌های نقره توسط عصاره آبی جلبک دریایی و تولید نانوذرات نقره می‌باشد که این روند و تغییرات میزان جذب، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Visible) تحت کنترل قرار گرفت. در ادامه به منظور تغلیظ و خالص سازی این نانوذرات، محلول احیایی به فالكون‌های ۵۰ ml منتقل شده و به مدت ۲۰ min در دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. در ادامه مایع رویی دور ریخته شده و پلت ته لوله‌ها در آب مقطر دیونیزه مجدداً حل شده و محتوای لوله‌ها با هم تلفیق و دوباره سانتریفیوژ گردید و به منظور خالص سازی و زدودن نیترات نقره اضافی از این محلول شتشو این پلت با آب مقطر و سانتریفیوژ آن سه بار انجام پذیرفت. سپس ۱۰۰ µl از این محلول خشک و وزن گردیده و بر مبنای آن تعیین غلظت استوک نهایی نانوذرات نقره بیوستنزی انجام شد.

**آزمون سمیت سنجی بوسیله آرتمیا (Brine shrimp lethality assay):** در این روش برای سنجش اثرات سمیت از سیستم‌های گونه‌ای آبی و سخت پوست به نام *A. franciscana* (تولید شده در شرکت INVE (Thailand) LTD با درصد تفریح ۹۰ درصد) استفاده شد. منبع آب مورد استفاده آب شور مصنوعی (آب لوله کشی و ۳۰ g نمک دریا) بود، که به منظور کلرزدایی به مدت یک هفته از قبل تحت هوادهی شدید قرار گرفته بود. زیرا در بررسی سمیت زیستی نانوذرات نقره به دلیل احتمال واکنش نقره با ترکیبات سولفات نمی‌توان برای کلر زدایی آب از تیوسولفات سدیم استفاده نمود. تفریح (تخم گشایی) سیستم‌های آرتمیا، بر اساس روش Sorghoos و همکاران در سال ۲۰۰۱، در pH ۷/۸، دمای ۲۷°C و نور Lux ۲۰۰۰ صورت پذیرفت (۳۵). ۲۴ h بعد از اضافه نمودن سیستم آرتمیا، ناپلیوس‌های تازه از سیستم خارج شده، با توجه به نورگرایی، لاروهای آرتمیا به یک بشر در مکانی تاریک منتقل شده و ناپلی‌های سالم و متحرک بر مبنای نورگرایی مثبت و تجمع در سطح بشر با استفاده از یک پیپت پاستور جمع آوری گردیدند (۳۵). در ادامه با هدف سمیت سنجی، رقت‌های متوالی از نانوذرات نقره شیمیایی و بیوستنزی (هر غلظت در ۳ تکرار) در چاهک‌های پلیت‌های کشت سلول ۲۴ خانه محتوی آب با شوری ۳۰ ppt در حضور کنترل (۳ گروه فاقد نانو نقره به عنوان گروه شاهد)، ایجاد گردیده و به هر چاهک ۳۰ ناپلی آرتمیا فرانسسیکانا اضافه گردید و با توجه به رهنمود استاندارد شماره ۲۰۳ می‌شود سازمان توسعه و همکاری اقتصادی می‌شود (۲۵). در ارتباط با آبریان، تعداد تلفات در ۱۲ h، ۲۴، ۳۶، و ۴۸ بعد از مجاورت با نانوذرات نقره شیمیایی و بیوستنزی ثبت گردیده و برای تعیین درصد مرگ و میر در غلظت‌های متفاوت و محاسبه LC<sub>50</sub> از نسخه ۱/۵ نرم افزار EPA Probit Analysis (منتشر شده توسط سازمان

۳- نانوذرات نقره بیوستنزی تهیه شده از عصاره آبی جلبک دریایی *Ulva flexuosa* (جلبک سبز) که مطابق بر روش توصیه شده توسط Rahimi و همکاران در سال ۲۰۱۴ تولید گردید (۲۸). خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانوذرات نقره: غلظت کلئید نانوذرات نقره شیمیایی با نام تجاری نانوسید L ۲۰۰۰ بنا بر گزارش شرکت سازنده، برابر ۴۰۰۰ mg/l و اندازه ذرات نقره در این محصول ۷/۱ ± ۱/۶۳ nm است. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی این محصول کلئیدی عبارتند از: میانگین پتانسیل زتای ۷/۸۶ ± ۵۲/۳۳ mV، اسیدیته ۲/۴ و میانگین هندسی قطر برابر با ۱/۴۶ ± ۱۲/۶۵ nm بوده و بنابر نتایج دستگاه-ICP AES، غلظت واقعی نقره در کلئید نانو ذرات نقره مذکور معادل ۳۹۸۸ mg/l اندازه گیری شده است (۵).

در مطالعه حاضر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانوذرات نقره بیوستنزی تهیه شده از عصاره آبی جلبک دریایی *S. boveanum* توسط دستگاه Particle size analyzer مدل: Scatterscope I qudix اندازه گیری گردید و جهت تایید کریستالی بودن نوع فلز تولید شده از روش پراش اشعهی X توسط دستگاه مجهز به آنالایزر اشعه ایکس منتشر کنند انرژی (EDX) مدل X'Pert Pro، شرکت Panalytical و نیز به منظور شناسایی گروه‌های عاملی در گیر در احیای بیوستنزی یون‌های نانونقره، از طیف سنج تبدیل فوریه مادون قرمز (FT-IR) مدل Nicolet IR۱۰۰ استفاده گردیده و شکل هندسی و اندازه ذرات نقره موجود در این کلئید، در تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) توسط دستگاه FESEM: مدل Sigma شرکت سازنده Zeiss آلمان، تعیین گردید.

در ارتباط با نانوذرات نقره بیوستنزی تهیه شده از عصاره آبی جلبک دریایی *U. flexuosa* اندازه متوسط نانوذرات نقره تولیدی توسط دستگاه Particle size analyzer (مدل: qudix ۱ ScatterScope، ساخت کشور کره) اندازه گیری شد و مشخصات نانوذرات بیوستنزی و شیمیایی در جدول ۱ آورده شده است.

نانوذرات از اندازه متوسطی در محدوده ۲۵ nm، شکل دایره‌ای و با اندازه بین ۲ nm تا ۳۲ nm و متوسط قطر ۱/۵ ± ۱۵ nm برخوردار بوده و نتایج آنالیز اشعه ایکس منتشر کننده انرژی آن نشان داده است که تنها ماده اصلی موجود در این کلئید، نقره می‌باشد (۳۷).

**بیوستنزی نانوذرات نقره از ماکرو جلبک‌های دریایی:** در این تحقیق نانوذرات نقره بیوستنزی با استفاده از عصاره آبی جلبک‌های دریایی *U. flexuosa* و *S. boveanum* به روش توصیه شده توسط Rahimi و همکاران در سال ۲۰۱۴ ساخته شد (۲۸). برای این منظور ماکرو جلبک دریایی در زمان بیشینه‌ی جزر از سواحل قشم و بوشهر جمع آوری شده و برای از بین بردن گل و لای، نمک و اپی فیت‌های چندین مرتبه با آب معمولی و آب مقطر شستشو و در سایه خشک و نهایتاً به کمک آسیاب پودر گردید. سپس عصاره آبی آن (جوشاندن ۱۰ g پودر جلبک در ۲۰۰ cc آب



جدول ۱. نتایج مربوط به آنالیز اندازه ذرات محصول نانوقره شیمیایی و بیوسنتز شده توسط دو جلبک *S. boveanum* و *U. flexuosa*. \* Span نحوه انتشار اندازه ذرات را نشان می‌دهد و حاصل  $(d_{90}-d_{10})/d_{50}$  می‌باشد و نقش انحراف معیار STED در محاسبات آماری را داراست. \*\* قطر متوسط دهک اول ذرات (۱۰ درصد ذرات با کوچکترین قطر). \*\*\* قطر متوسط نیمی از ذرات (۵۰ درصد ذرات با قطر کوچکتر). \*\*\*\* قطر متوسط نه دهک اول ذرات (۹۰ درصد ذرات).

نوع نانوذرات	Span* میانگین	** (۱۰) d	*** (۵۰) d	**** (۹۰) d
بیوسنتزی با جلبک <i>S. boveanum</i>	۲/۹۰±۷/۹۹	۷/۴۲	۲/۹۰	۷/۲
بیوسنتزی با جلبک <i>U. flexuosa</i>	۵/۳۹±۰/۹۸	۳/۴۹	۵/۳۹	۸/۷۷
نانوذرات شیمیایی L-۲۰۰۰	۷/۱±۷/۴۹	۳/۶۶	۷/۱	۱۷/۹۲

حفاظت محیط زیست امریکا) استفاده شد.

## نتایج

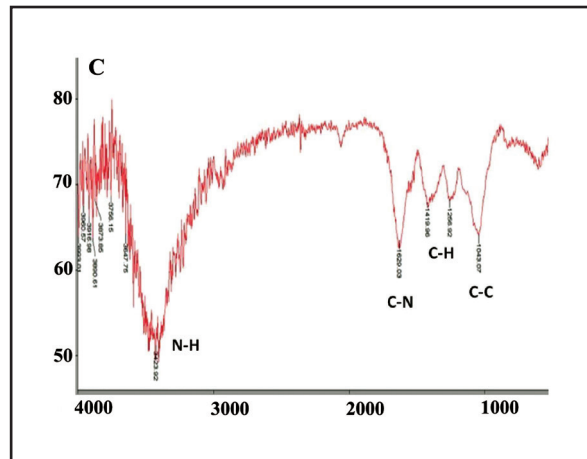
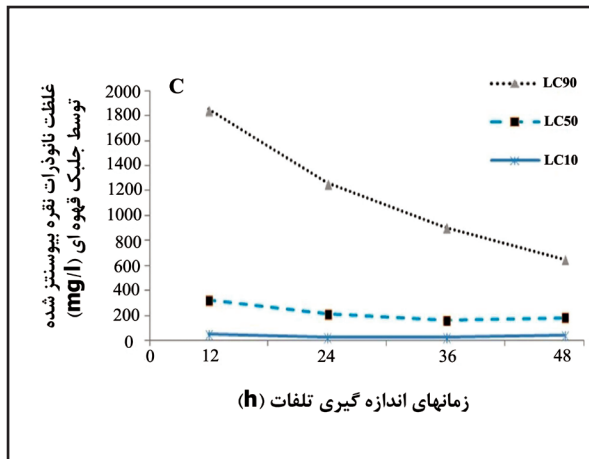
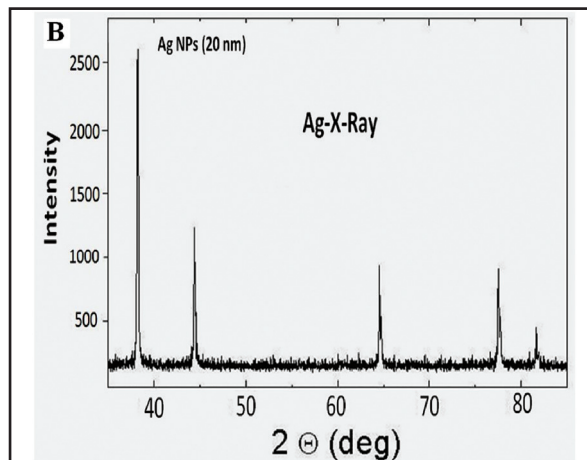
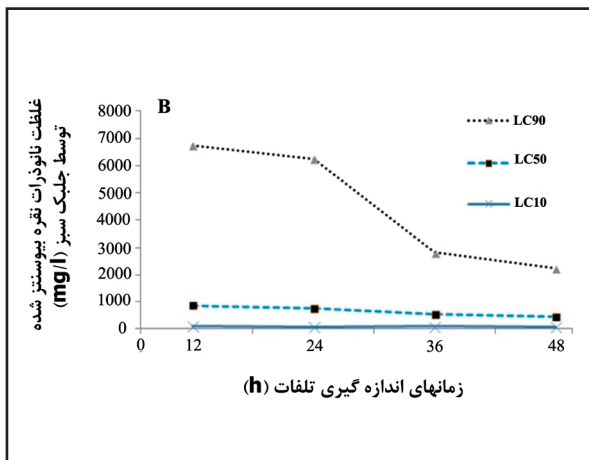
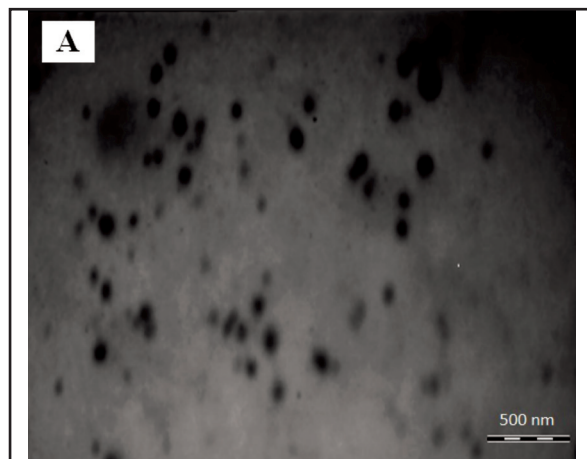
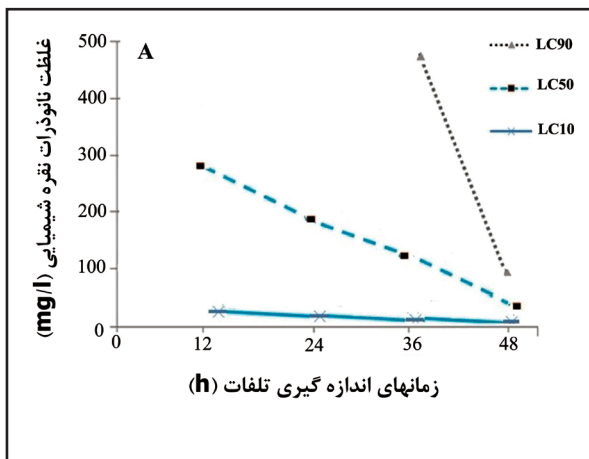
در مطالعه حاضر بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی دو گونه ماکرو جلبک دریایی *U. flexuosa* و *S. boveanum* خلیج فارس انجام پذیرفت. بنحوی که شروع تغییر رنگ محلول نیترا نقره و عصاره ماکرو جلبک حدود ۳۰ min پس از واکنش و پیشرفت آن در محلول‌ها تا ۲۴ h بعد به سمت تیره تر شدن، دلیل احیای یون‌های نقره در محلول و تولید بیوسنتزی نانوذرات نقره می‌باشد. اندازه و نحوه پراکنش نانوذرات نقره بیوسنتزی تولید شده از هر دو نوع جلبک *S. boveanum* و *U. flexuosa* در جدول ۱ آورده شده است. که نتایج حاصله از دستگاه آنالیز اندازه ذره نشان داد که متوسط اندازه نانوذرات تولید شده توسط *U. flexuosa* برابر  $5/39 \pm 0/98$  نانومتر و توسط *S. boveanum* در برابر  $2/90 \pm 7/99$  نانومتر است. تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) از نانوذرات نقره بیوسنتزی تولید شده توسط *S. boveanum* بر روی یک صفحه کربنی پوشانیده شده از مس، نیز تایید نمود که شکل این نانوذرات تولید شده کروی شکل است (تصویر ۱- الف). بعلاوه نتایج آنالیز اشعه ایکس منتشر کننده انرژی نیز نشان داد که تنها فلز اصلی سنتز شده توسط عصاره این جلبک قهوه‌ای، نانو کریستال‌های نقره می‌باشد (تصویر ۱- ب) و طیف FT-IR آن نیز واجد پیک‌های در محدوده ۱-۳۴۲۴، ۱۶۲۹، ۱۴۱۹، ۱۲۵۶ و ۱۰۴۳ بوده که به ترتیب، نشان دهنده حضور پیوندهای C-N، C-H، C-H و C-C بعنوان گروه‌های عاملی در سنتز نانوذرات نقره توسط *S. boveanum* است (تصویر ۱- ج).

مشاهدات میکروسکوپی نشان داد که ۲۴-۴۸ h پس مواجهه لارو آرتمیا با نانوذرات نقره، این نانوذرات توانسته‌اند در روده آرتمیا تجمع یابند. آنالیز داده‌ها در تحقیق حاضر نشان می‌دهد که اثرات سمیت هر سه نوع نانوذره نقره بر لارو آرتمیا با افزایش غلظت و نیز با افزایش مدت زمان مجاورت روند افزایشی را به دنبال داشته است و تفاوت‌ها میان آن‌ها معنی‌دار بوده است ( $P < 0/05$ ). بنحوی که پس از ۴۸ h، غلظت ایجاد کننده ۵۰ درصد تلفات (LC<sub>50</sub>)، در ناپلی آرتمیا با نانوذرات نقره شیمیایی با نام تجاری نانوسید L-۲۰۰۰-۳۱/۸ mg/l بوده، حال آنکه این غلظت برای نانوذرات نقره بیوسنتز شده توسط جلبک *U. flexuosa* mg/l ۳۶۶/۹ و در ارتباط با نانوذرات نقره بیوسنتز شده توسط جلبک قهوه‌ای

*S. boveanum* ۱۴۱/۱ mg/l ارزیابی شده است (تصویر ۲). مقایسه نتایج سمیت این سه نوع نانوذره، نشان می‌دهد که نانوذرات نقره شیمیایی از قدرت سمیت نسبتاً بالایی برخوردارند، لکن نوع بیوسنتزی تهیه شده از آن بالاخص نانوذرات نقره بیوسنتز شده از جلبک *U. flexuosa* توانسته است، قریب ۱۰ برابر پتانسیل سمیت کمتری را بروز دهد، حال آنکه این میزان برای نانوذرات نقره ساخته شده از *S. boveanum* تنها به میزان ۴ برابر بوده است (تصویر ۳). بعلاوه همانطور که ذکر شد، توان سمیت نانوذرات نقره بر آرتمیا با افزایش زمان مجاورت افزایش یافته است، بطوریکه غلظت کشنده میانی نانوذرات نقره (LC<sub>50</sub>) ۱۲ h و ۴۸ h بعد از مجاورت به ترتیب برای نانوذرات نقره شیمیایی ۳۱۵/۲ و ۳۱/۸ mg/l بوده است (تصویر ۲) که نشان دهنده تفاوت سمیت تا حد ۱۰ برابر بین این دو دوره‌ی زمانی است و برای نانوذرات نقره بیوسنتزی به ترتیب از *U. flexuosa* ۷۵۵/۴ و ۳۶۶/۹ و از *S. boveanum* ۲۷۷/۶ و ۱۴۱/۱ (تفاوت سمیت تا حد ۲ برابر) ارزیابی شده است (تصویر ۲). از طرفی نسبت تلفات نیز با غلظت نانوذره نقره در هر دوره زمانی نسبت مستقیم را نشان داده است، بطوریکه در ارتباط با نانوذرات نقره شیمیایی، طی مدت زمان ۴۸ h بعد از مجاورت، غلظت ۹/۵۴ mg/l، ۱۲/۰۱، ۳۱/۸۱ و ۱۰۶/۱۳، به ترتیب ایجاد ۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۹۰ درصد تلفات در لاروهای آرتمیا نموده‌اند و این میزان برای ناپلیوس‌های آرتمیا طی مجاورت ۴۸ h با نانوذرات نقره بیوسنتزی از *U. flexuosa* در غلظت‌های ۷۵/۴، ۱۵۹/۵، ۳۶۶/۹، ۱۷۸۳/۹ ایجاد شده و در مواجهه با نانوذرات نقره بیوسنتز شده از *S. boveanum* در غلظت‌های ۴۲/۴، ۷۴/۹، ۱۴۱/۱، ۳۶۶/۷ رخ داده است.

## بحث

امروزه مطالعات نانوبوم سم شناسی دریایی عمدتاً متمرکز بر ارزیابی تأثیرات منفی آتی نانوذرات است. در این میان نانوذرات نقره عمدتاً به اثرات ضدباکتریایی معروف می‌باشند، از این حیث امکان کاربری‌های متنوع آن‌ها در بخش بهداشت آبزیان دور از ذهن نیست (۳۰). لذا یافتن غلظت‌های کشنده و نیز حداکثر غلظت مجاز این مواد در گونه‌های آبزی نظیر آرتمیا که به عنوان غذای زنده و حامل مکمل‌های خوراکی، ویتامین‌ها و داروها (۱۵)، برای بچه ماهیان کاربرد دارد، می‌تواند حائز اهمیت باشد. بعلاوه آرتمیا به عنوان یک نشانگر زیستی آلودگی در آب‌هایی با شوری بالا محسوب شده و نقشی مشابه دافنی در آب شیرین دارد (۳۴). گزارشات مختلفی از سمیت



تصویر ۲. روند ایجاد تلفات با افزایش غلظت نانوذرات نقره شیمیایی (نمودار A)، نانوذرات نقره بیوسنتز شده توسط عصاره آبی جلبک *U. flexuosa* (نمودار B)، نانوذرات نقره بیوسنتز شده توسط عصاره آبی جلبک *S. boveanum* (نمودار C) و افزایش زمان مجاورت ناپلی آرتمیا.

تصویر ۱. (A) تصویر TEM الگوی XRD و (C) طیف FT-IR از نانوذرات نقره بیوسنتز شده توسط عصاره آبی جلبک *S. boveanum*.

nM نانوذرات نقره برای سیست و ناپلیوس آرتمیا سمی بوده و با افزایش غلظت تا ۱۰ nM/ml کاهش نرخ تخمه‌گذاری، افزایش نرخ مرگ و میر ناپلی‌ها، تجمع روده‌ای و نهایتاً بروز اثرات کارسینوژنیک و آسیب DNA، را در پی داشته است (۳). در تحقیقی مشابه نیز، سمیت حاد و مزمن نانوذرات نقره بر روی دافنی آب شیرین *Daphnia magna* به عنوان یک نشانگر زیستی آلودگی در آب‌های شیرین مورد بررسی قرار گرفته که نتایج بدست

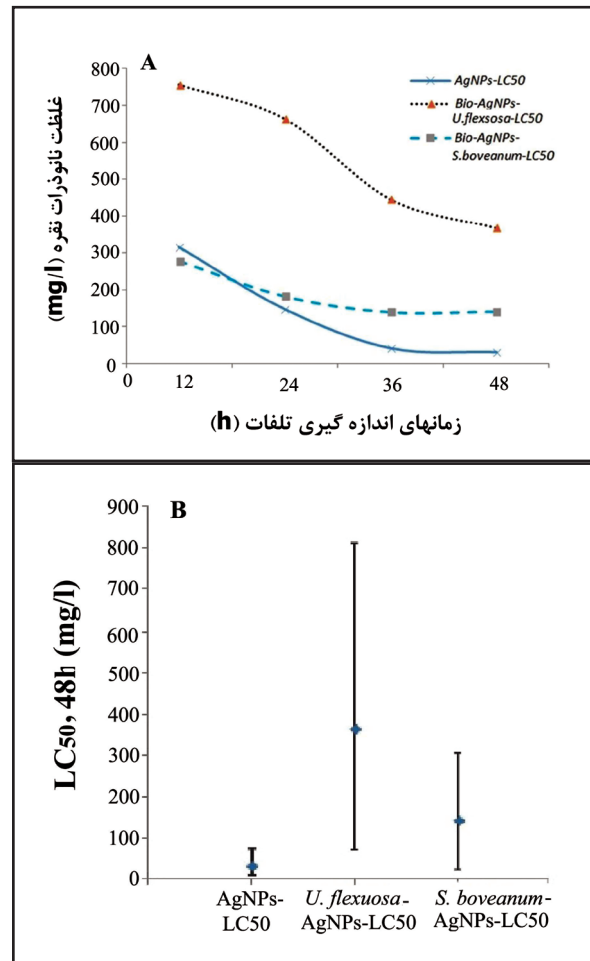
نانوذرات نقره بر آبزبان موجود است، لکن در ارتباط با اثرات منفی نانوذرات نقره بر محیط زیست آبی نظرات محققین تا حدودی متفاوت بوده است. Kumar و همکاران در سال ۲۰۱۲، میزان LD<sub>50</sub> ۲۴ ساعته را در ناپلی *A. salina* برای سمیت نانوذرات نقره بیوسنتز شده از جلبک دریایی *S. ilicifolium* ۱۰ nM/ml گزارش نموده‌اند (۲۱). در تایید این تحقیق Arulvasu و همکاران در سال ۲۰۱۴ نیز بیان داشتند که غلظت‌های





نموده و نرخ مرگ و میر حدوداً ۵۶ درصد و ۱۰۰ درصد را برای نانوذرات نقره و ۱۳ درصد و ۸۰ درصد را برای میکروذرات نقره به ترتیب در غلظت‌های ۱/۰۱ و ۱ گزارش کردند (۱۳).

اساساً سمیت نانو ذرات نقره (Ag-NPs) در ارگانسیم‌ها به حمل یون‌های نقره (Ag<sup>+</sup>) توسط آن‌ها نسبت داده می‌شود، که آسیب‌های نگران کننده‌ای را بر غشای سلولی و نیز دیگر ترکیبات درون سلولی وارد می‌سازد و عمدتاً در ارتباط با استرس اکسیداتیو، اثرات القایی آن بر DNA، لیپو پروتئین‌ها و فعالیت‌های معین متابولیسمی است که می‌تواند وابسته به فاکتورهای مختلفی چون طبیعت نانوذره، شکل، سایز و برخی فاکتورهای محیطی چون شوری، دما و اکسیژن محلول باشد از این رو برهمکنش‌های نانوذرات Ag-NPs با پدیده‌های زیستی در آب‌های شور (SW) و شیرین (EW) متفاوت است (۲۲). بر اساس نتایج یاد شده می‌توان نتیجه گرفت که نانوذرات نقره در آب‌های شور سمیت کمتری نسبت به آب شیرین داشته و مقاومت آرتمیا که شاخص آب‌های با درجه شوری بالاست، بسیار بیشتر از آریان آب شیرین می‌باشد، از این رو اثرات زیست محیطی نانوذرات نقره بایست بیشتر در منابع آب شیرین ارزیابی گردد. در تحقیق حاضر، اثرات کشنده کلونید نانو ذرات نقره بر روی ناپلی آرتمیا در زمان‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. که نتایج بدست آمده از آنالیز داده‌ها گواه این است که اثرات سمیت سلولی هر سه نوع نانوذره نقره بر لارو آرتمیا با افزایش غلظت و نیز با افزایش مدت زمان مجاورت روند افزایشی را به دنبال داشته است. بنحویکه میزان LC<sub>50</sub> طی افزایش زمان در معرض گذاری یک روند کاهشی را نشان داده و در نتیجه غلظت کمتری از ماده مورد نیاز است تا ۵۰ درصد تلفات به ثبت رسد. از این رو LC<sub>50</sub> در ۲۴ h اولیه بیشتر از میزان LC<sub>50</sub> در پایان دوره (۹۶ h) است. از دیگر نتایج مشاهده شده در مطالعه حاضر، تجمع نانوذرات نقره در روده آرتمیا بوده است که می‌توان احتمال داد که این امر منجر به بروز اثرات سمیت (مشاهده رفتارهایی چون: کندی سرعت حرکت، شنای نامتعارف و سکون) گردیده و نهایتاً به مرگ منتهی شده است. Gambardella و همکاران در سال ۲۰۱۴ سمیت نانوذرات اکسیدهای فلزی (SnO<sub>2</sub>, CeO<sub>2</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) را بر میگوی آب شور *A. salina* بواسطه ارزیابی مرگ و میر و واکنش‌های رفتاری (تغییرات سرعت شنا) و فعالیت بیوشیمیایی (ChE, GST, CAT) بررسی نمودند، که مشاهدات میکروسکوپی و آنالیزهای شیمیایی ایشان نشان داد که لاروها نانوذرات فلزی را درون روده‌هایشان جذب کرده‌اند هرچند این تجمع بعد از ۴۸ h منجر به مرگ و میر شایان توجهی نشده است. لکن نظر به نوع نانوذرات سنجشی این عدم القای مرگ و میری در لاروها، تغییرات رفتاری چون کاهش قابل توجه سرعت شنا و تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی را در پی داشته است (۱۲). در تحقیق حاضر بیوسنتز نانوذرات نقره بواسطه عصاره آبی دو گونه ماکرو جلبک دریایی *U. flexuosa* و *S. boveanum* S. فارس مطابق بر روش Rahimi



تصویر ۳. (A) مقایسه غلظت ایجاد کننده نیمی از تلفات (LC<sub>50</sub>) در ناپلی آرتمیا، طی افزایش زمان مجاورت با نانوذرات نقره شیمیایی (AgNPs) و بیوسنتز شده توسط جلبک‌های *S. boveanum* (Bio-AgNPs-S. boveanum) و *U. flexuosa* (Bio-AgNPs-U. flexuosa) مقایسه LC<sub>50</sub> 48h بین سه نوع نانو ذره نقره. (B)

آمده حاکی از تجمع زیست محیطی بالای این ماده می‌باشد، به نحویکه مواجهه دافنی با نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰ mg/l منجر به بروز تلفات ۵۰ درصدی گردیده و غلظت ۵ mg/l این ماده نیز کاهش رشد و باروری دافنی را در پی داشته است (۹). Becaro و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵، اثرات سمیت نانوذرات نقره تثبیت شده با پلی وینیل الکل (PVA) را در غلظت‌های مختلف طی جذب زیستی توسط میکرو جلبک *Pseudokirchneriella subcapita*، آرتمیا *A. salina* و دافنی *Daphnia similis* مدلهای زیستی ارزیابی نمودند که نتایج ایشان نشان داد که مقدار EC<sub>50</sub> به ترتیب برای *A. salina* و *P. subcapita* برابر با ۱/۰۹ و ۲-۱۰ × ۵/۵ است و برای دافنی EC<sub>50</sub> ۴۸ h برابر با ۴-۱۰ × ۲/۶۲ است (۷). از این رو نظر به دسته بندی ارائه شده توسط سازمان ملل متحده آمریکا (۱۸)، چنانچه ماده‌ای واجد EC<sub>50</sub> ۴۸ h با سمیت کمتر از ۱ mg/l باشد، جز مواد بسیار سمی تلقی گردیده و از این حیث، نانوذرات نقره در این گروه جای می‌گیرند. Gaiser و همکاران نیز در سال ۲۰۱۱، سمیت حاد ۹۶ h نانو و میکروذرات نقره را بر نوزادهای *D. magna* ارزیابی

نانو مواد به بوم سازگان های آبی است.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز و از محل پژوهانه نگارندگان انجام پذیرفت.

### تعارض در منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع گزارش نشده است.

### References

- Alavi, S.V., Dehpour, A.A. (2010). Evaluation of the nanosilver colloidal solution in comparison with the registered fungicide to control greenhouse cucumber downy mildew disease in the north of Iran. *Acta Hortic*, 877, 877. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.877.226>
- Amulyavichus, A., Daugvila, A., Davidonis, R., Sipavichus, C. (1998). Study of chemical composition of nanostructural materials prepared by laser cutting of metals. *Phys Met Metallogr*, 85, 111-117.
- Arulvasu, C., Jennifer, S., Prabhu, D., Chandhirasekar, D. (2014). Toxicity effect of silver nanoparticles in brine shrimp artemia. *Sci World J*, 2014, 1-10. PMID: 24516361
- Arya, V. R. (2013). Biological synthesis of silver nanoparticles from aqueous extract of endophytic fungus *Aspergillus terreus* and its antibacterial activity. *Int J Nanomater Biostr*, 3, 35-37.
- 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*. *J Nanobiotechnol*, 10, 10-14. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-10-14> PMID: 22472056
- Azizi, S., Namvar, F., Mahdavi, M., Bin Ahmad, M., Mohamad, R. (2013). Biosynthesis of silver nanoparticles using brown marine macroalga, *Sargassum Muticum* aqueous extract. *Mater J*, 6, 5942-5950. PMID: 28788431
- Becaro, A. A., Jonsson, C. M., Puti, F. C., Siqueira, M. C., Mattoso, L. H. C., Correa, D. S., Ferreira, M. D. (2015). Toxicity of PVA-stabilized

و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام پذیرفت (۲۸). Yousefzadi و همکاران در سال ۲۰۱۴، خواص ضدباکتریایی قوی را نسبت به باکتری های گرم مثبت برای نانوذرات نقره بیوسنتز شده توسط *U. flexuosa* نشان دادند (۳۷). در رویکردی مشابه Shanmugam و همکاران در سال ۲۰۱۴ نیز، بیوسنتز نانوذرات نقره را توسط گونه ای از جلبک قهوه ای سارگاسم، موسوم به *S. wightii* ارائه می کنند که خواص ضد باکتریایی مؤثری در برابر پاتوژن های چون *S. typhi* و *S. aureus*، *K. pneumoniae* را نشان داده است (۳۳). از دیگر گزارشات مبتنی بر بیوسنتز ماکرو جلبکی Ag-NPs، می توان به کار تحقیقاتی Azizi و همکاران در سال ۲۰۱۳ اشاره نمود که توانستند با بهره گیری از عصاره آبی ماکرو جلبک دریایی قهوه ای *S. muticum*، بعنوان یک عامل احیایی، نانوذرات نقره را با طیف اندازه ۵-۱۵ به روش زیستی سنتز نمایند که در مقایسه با تحقیق حاضر، نانوذرات نقره تهیه شده از عصاره آبی جلبک *S. boveanum* (۷/۵۷ nm) که از همان جنس سارگاسم لیکن از گونه متفاوتی بوده است، محدود اندازه درشت تری را نشان داده است (۲۸، ۶). Kumar و همکارانش در سال ۲۰۱۲، نیز سنتز زیستی نانوذرات نقره در محدوده اندازه ۱۸-۴۶ تهیه شده از عصاره آبی جلبک قرمز *Gracilaria corticata* با قابلیت ضدقارچی در مقابل پاتوژن های *Candida albicans* و *C. glabrata* را گزارش نمودند (۲۰) و علاوه بر آن ها در سال ۲۰۱۴ تحقیقات Sangeetha و همکارش Saravanan نشان داد که نانوذرات نقره بیوسنتز شده توسط جلبک سبز *U. lactuca* که گونه دیگری از جنس *Ulva* (مشابه با مطالعه حاضر) می باشد، از قابلیت های زیستی ضدباکتریایی در برابر عوامل باکتریایی بیماریزایی چون *Bacillus sp*، *Escherichia coli*، *Pseudomonas sp* برخوردار است (۳۱).

**نتیجه گیری:** بنا بر داده های بدست آمده از مقایسه نتایج سمیت نوع نانوذره نقره بر لارو آرتمیا، نانوذرات نقره شیمیایی از قدرت سمیت نسبتاً بالایی برخوردار بوده (۳۱/۸ mg/l)، لکن نوع بیوسنتزی تهیه شده از جلبک دریایی بالاخص از *U. flexuosa* توانسته است، به میزان ۱۰ برابر پتانسیل سمیت کمتری را نشان دهد (۳۶۶/۹ mg/l) و این امر گویای این است که رویکرد سنتز سبز نانوذرات فلزی با استفاده از بافت های گیاهی غیر فعال، عصاره ها، ترشحات و دیگر بخش های گیاهان با محتوای آنتی اکسیدانی بالا (پلی فنول ها) و پلی ساکاریدهای سولفاته، نقش مضاعفی را در احیاء یون های فلزی و ممانعت از اکسیداسیون (بخاطر خاصیت عاملی پوششی) ایفا می کند و این امر می تواند روش جایگزین و نوید بخشی در تولید نانوذرات نقره ایمن و دوستدار محیط زیست باشد که ضمن حفظ قابلیت های صنعتی ارزشمند نانومواد، در تولید و توسعه کاربری هایی با اهداف زیست مدیریتی پیشگام بوده و دیگر فاقد هر گونه مواد شیمیایی مضر است. در انتها می توان چنین عنوان نمود که، مطالعات نانوبوم سم شناسی آبیان، شاخص مناسبی برای پیش بینی اثرات احتمالی رهایش



- silver nanoparticles to algae and microcrustaceans. *Environ Nanotechnol Monit Manag*, 3, 22-29.
8. Clark, L. S., Bowen, S. T. (1978). The genetic of *Artemia salina*. *J Hered*, 67, 385-388. PMID: [1021596](#)
  9. Chun- Mei, Z., Wen-xiong, W. (2011). Comparison of acute and chronic toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate to *Daphnia magna*. *Environ Toxicol Pharmacol*, 30, 885-892. PMID: [21191880](#)
  10. Fabrega, J., Luoma, S. M., Tyler, C. R., Galloway, T. S., Lead, J. R. (2011). Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. *Environ Int*, 37, 517-531. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.10.012> PMID: [21159383](#)
  11. Fidel, M., Laura, B., Alessandra, A., Elpidio, M., Sanchez, H., Horacio, B., Facundo, R., Garth, J. (2013). Antibiofilm activity of silver nanoparticles against different microorganisms. *Bioadhes Biofilm Res*, 6, 651-660. PMID: [23731460](#)
  12. Gambardella, C., Mesaric, T., Milivojević, T., Sepčić, K., Gallus, L., Carbone, S., Ferrando, S., Faimali, M. (2014). Effects of selected metal oxide nanoparticles on *Artemia salina* larvae: evaluation of mortality and behavioural and biochemical responses. *Environ Monit Assess*, 186, 4249-59. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-3695-8> PMID: [24590232](#)
  13. Gaiser, B. K., Biswas, A., Rosenkranz, P., Jepson, M. A., Lead, J.R., Stone, V., Tyler, C. R., Fernandes, T. F. (2011). Effects of silver and cerium dioxide micro- and nano-sized particles on *Daphnia magna*. *J Environ Monit*, 13, 1227-1235. <https://doi.org/10.1039/c1em10060b> PMID: [21499624](#)
  14. Gavhane, A. J., Padmanabhan P, Kamble, S. P., Jangle, S. N. (2012). Synthesis of silver nanoparticles using extract of Neem leaf and triphala and evaluation of their Antimicrobial activities. *Int J Pharm Biol Sci*, 3, 88-100.
  15. Gomez, G.B., Herrera, M.A., Abreu, F.A., Roque, A. (1998). Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the brine shrimp. *Microbiology*, 64, 2318-2322. <https://doi.org/10.3923/jfas.2016.323.330> PMID: [9603861](#)
  16. Jagtap, U.B., Bapat, V.A. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using *Artocarpus heterophyllus* lam. seed extract and its antibacterial activity. *Ind Crop Prod*, 46, 132-137. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.01.019>
  17. Ju-Nam, Y., Lead, J. R. (2008). Manufactured nanoparticles: an overview of their chemistry, interactions and potential environmental problems. *Sci Total Environ*, 400, 396-414. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.06.042> PMID: [18715626](#)
  18. Kim, K.H., Song, D.J., Yu, M.H., Park, Y.S., Noh, H.R., Kim, H.J., Choi, J.W. (2013). Hazard classification of household chemical products in Korea according to the globally harmonized system of classification and labeling of chemicals. *Ann Occup Environ Med*, 25(1), 11. <https://doi.org/10.1186/2052-4374-25-11> PMID: [24472347](#)
  19. Kreyling, W.G. (2010). A complementary definition of nanomaterial. *Nano Today*, 5, 165-168. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2010.03.004>
  20. Kumar, P., Senthamil Selvi, S., Govindaraju, M. (2012). Seaweed-mediated biosynthesis of silver nanoparticles using *Gracilaria corticata* for its antifungal activity against *Candida* spp. *Appl Nanosci*, 3, 495-500. <https://doi.org/10.1007/s13204-012-0151-3>
  21. Kumar, P., Selvi, S. S., Praba, A. L., Selvaraj, M., Rani, L. M., Suganthi, P., Sarojini Devi, B., Govindaraju, M., (2012). Antibacterial activity and in-vitro cytotoxicity assay against brine shrimp using silver nanoparticles synthesized from *Sargassum ilicifolium*. *Dig J Nanomater Biostruct*, 7, 1447-1455.
  22. Lapresta-Fernández, A., Fernández, A., Blasco, J. (2012). Nanoecotoxicity effects of engineered silver and gold nanoparticles in aquatic organisms. *Trends Analyt Chem*, 32, 40-59. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.09.007>
  23. Lavens, P., Sorgelos, P. (1996). Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO, Fisheries Technical Paper, 361, 283-295.
  24. Matranga, V., Corsi, I. (2012). Toxic effects of



- engineered nanoparticles in the marine environment: Model organisms and molecular approaches. *Mar Environ Res*, 76, 32-40. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.01.006> PMID: 22391237
25. OECD. (1992). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, France.
26. Piccinno, F., Gottschalk, F., Seeger, S., Nowack, B. (2012). Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials for Europe and the world. *J Nanopart Res*, 14, 1109-1120.
27. Prabhu, S., Poulouse, E.K. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *Int Nano Lett*, 2, 32. <https://doi.org/10.1186/2228-5326-2-32>
28. Rahimi, Z., Yousefzadi, M., Noori, A., Akbarzadeh, A. (2014). Synthesis of Silver Nanoparticles using Three Marine Macro algae from the Persian Gulf, Iran. *Oceanography*, 5, 71-78.
29. Rajeshkumar, S., Malarkodi, C., Gnanajobitha, G., Paulkumar, K., Vanaja, M., Kannan, C., Annadurai, G. (2013). Seaweed-mediated synthesis of gold nanoparticles using *Turbinaria conoides* and its characterization. *J Nanostruct Chem*, 3, 44.
30. Reynolds, G.H. (2001). Environmental Regulation of Nanotechnology: Some Preliminary Observations, *Nano Archive*, 31, 10681-10688.
31. Sangeetha, N., Saravanan, K. (2014). Biogenic silver nanoparticles using marine seaweed (*Ulva lactuca*) and evaluation of its antibacterial activity. *J Nanosci Nanotechnol*, 2, 99-102.
32. Senapati, S., Syde, A., Moeez, S., Kumar, A., Ahmah, A. (2012). Intracellular synthesis of gold nanoparticles using alga *Tetraselmis kochinensis*. *Mater Lett*, 79, 116-118.
33. Shanmugam, N., Rajkamal, P., Cholan, S., Kannadasan, N., Sathishkumar, K., Viruthagiri, G., Sundaramanickam A. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles from the marine seaweed *Sargassum wightii* and their antibacterial activity against some human pathogens. *Appl Nanosci*, 4, 881-888. <https://doi.org/10.1007/s13204-013-0271-4>
34. Sharma, K., Yngard, R.A. Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Adv Colloid Interface Sci*, 145, 83-96. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2008.09.002> PMID: 18945421
35. Sorgeloos, P., Dehert, P., Candreva, P. (2001). Use of the brine shirinp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*, 200, 147-759.
36. Wijnhoven, S.W.P., Peijnenburg, W.J.G.M., Herberts, C.A., Hagens, W.I., Oomen, A.G., Heugens, E.H.W., Roszek, B., Bisschops, J., Gosens, I., Meent, D. van de, Dekkers, S., Jong, W.H. de, Zijverden, M. van, Sips, A., Geertsma, R.E. (2009). Nano-silver - a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*, 3(2), 109-138.
37. Yousefzadi, M., Rahimi, Z., Ghafari, V. (2014). The green synthesis, characterization and antimicrobial activities of silver nanoparticles synthesized from green alga *Enteromorpha flexuosa* (wulfen) *J Agardh Mater Lett*, 137, 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.08.110>



# Comparative Toxicity Assessment of Chemical Nanosilver and Biosynthetic Silver Nanoparticles Produced by Marine Macroalgae from the Persian Gulf in Biomarker: *Artemia nauplii*

Sakineh Mashjoor<sup>1</sup>, Mojtaba Alishahi<sup>2</sup>, Zahra Tulaby Dezfoly<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

<sup>2</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

(Received 26 September 2018, Accepted 27 November 2018)

## Abstract:

**BACKGROUND:** Considering the progressing tendency of administration of nanomaterials products in the world and their entrance to aquatic ecosystems, their toxicity assessment on the aquatic environment and proposing the biocompatible solutions in their production seems indispensable.

**OBJECTIVES:** In this study, the toxicity of silver nanoparticles (AgNPs), chemical and biosynthetic forms were evaluated using the biomarker, artemia nauplii (*Artemia franciscana*).

**METHODS:** For toxicity assessment, the OECD standard method was used. The artemia nauplii were exposed to additive serial concentration of biosynthetic and chemical silver nanoparticles. For biosynthesis of silver nanoparticles, aqueous extracts of two species of marine macroalgae *Ulva flexuosa* (green algae) and *Sargassum boveanum* (brown algae) were used. Artemia nauplii mortality in the times of 12, 24, 36 and 48 hours after exposure to silver nanoparticles were recorded and analyzed via Probit software.

**RESULTS:** Survey findings showed that not only the toxicity of these three types of silver nanoparticles on artemia nauplii increased in a dose-dependent manner, but also their toxicity increased along with duration of exposure time. The toxicity of these nanoparticles were significantly different ( $P < 0.05$ ). The 48 h LC50 value of chemical AgNPs in the artemia nauplii was 31.8 mg/l, while 48 h LC50 for biosynthesis AgNPs produced by *U. flexuosa*, and *S. boveanum* were 366.96 and 141.16 mg/l respectively.

**CONCLUSIONS:** Comparison of the toxicity of these three types of AgNPs on artemia nauplii showed that, the chemical form of AgNPs was more toxic (up to 10 times) than a biosynthetic form of AgNPs. Moreover, the source of biosynthesis of silver nanoparticles had a considerable impact on toxicity of final production, because a biosynthetic form of AgNPs produced by *U. flexuosa* was less toxic than the same form prepared from *S. boveanum*.

## Keywords:

Toxicity, *Artemia franciscana*, Marine macroalgae, Silver nanoparticles

## Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Results of particle size analysis of chemical nanosilver and biosynthetic silver nanoparticles produced by two algae *S. boveanum* and *U. flexuosa*.

**Figure 1.** A) TEM image B) XRD pattern and C) FT-IR spectrum of silver nanoparticles biosynthesized by aqueous extracts of algae *S. boveanum*.

**Figure 2.** The increase in the mortality rate by increasing the concentration of chemical silver nanoparticles (A), and of silver nanoparticles biosynthesized by aqueous extracts of algae *U. flexuosa* (B) and *S. boveanum* (C) and increasing the exposure time to artemia nauplii.

**Figure 3.** A) Comparison of the lethal concentration 50 (LC50) of artemia nauplii with increasing exposure time to chemical silver nanoparticles (AgNPs) and biosynthetic silver nanoparticles produced by *S. boveanum* (Bio-AgNPs-*S. Boveanum*) and *U. flexuosa* (Bio-AgNPs-*U. flexuosa*), B) Difference between 48 h-LC50 of artemia nauplii that was exposed to three types of silver nanoparticles.