

شناسایی و مبارزه با رشد جلبکی در منابع آب با استفاده از نانوذرات اکسید روی

مهدی اسکندری^۱، سعید دهستانی اطهر^۲، بهرام عبدالهی نژند^۳، بابک خیاط رستمی^۴

۱- دکترای مهندسی نانومواد، گروه تکنولوژی نانوذرات، پژوهشکده فرآوری مواد معدنی جهاد دانشگاهی واحد تربیت مدرس، تهران، ایران

(نویسنده مسئول) ۸۶۰۱۷۲۳۲ (۰۲۱) msnano1361@yahoo.com

۲- استادیار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۳- دکترای مهندسی نانومواد، گروه تکنولوژی نانوذرات، پژوهشکده فرآوری مواد معدنی جهاد دانشگاهی واحد تربیت مدرس، تهران، ایران

۴- دبیر کمیته تحقیقات آب منطقه‌ای اردبیل

(دریافت ۹۳/۲/۱۷ پذیرش ۹۳/۵/۳۰)

چکیده

افزایش غلظت مواد مغذی مانند نیترات و فسفات موجب شکوفایی جلبک در منابع آب می‌شود. این شکوفایی جلبکی باعث تغییر در طعم و بوی آب شده و کیفیت آب را کاهش می‌دهد. در این پژوهش رشد جلبکی در منابع آب (سد یامچی اردبیل) با استفاده از نانو ذرات اکسید روی بررسی شد. بعد از کشت جلبک‌های جمع‌آوری شده از سد یامچی و سپری شدن زمان لازم به منظور رشد جلبک، شناسایی جلبک‌ها، با تهیه لام و مشاهده در زیر میکروسکوپ انجام شد. نتایج نشان داد گونه‌های کلادوفورا و اوگلا در محیط کشت رشد بیشتری داشتند. برای حذف و جلوگیری از رشد جلبک، نانوذرات اکسید روی با استفاده از روش شیمیایی تولید شد. نانوذرات اکسید روی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری و پراش اشعه ایکس مشخصه‌یابی شد. نتایج نشان داد که قطر نانوذرات بین ۱۰ تا ۳۰ نانومتر و فاز نانوذرات اکسید روی همگراگونال و بدون هیچ ناخالصی است. اثر نانوذرات با غلظت‌های مختلف بین صفر تا ۳ ppm برای جلوگیری از رشد جلبکی مطالعه شد. به منظور تعیین دز مهارکننده رشد جلبک‌ها ابتدا از غلظت‌های کم نانوذرات اکسید روی استفاده شد. نتایج نشان داد که در غلظت‌های کمتر از ۱ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی، کاهش در رشد جلبک‌ها مشاهده نمی‌شود. اما در غلظت‌های بیش از ۱ میلی‌گرم در لیتر، کاهش قابل توجهی در میزان جلبک‌ها مشاهده شد، به طوری که در غلظت‌های بالای ۲ میلی‌گرم در لیتر، هیچ‌گونه رشد جلبکی رخ نداد.

واژه‌های کلیدی: رشد جلبکی، نانوذرات ZnO، منابع آب، بیومس

۱- مقدمه

از فعالیت‌های متابولیکی طبیعی جلبک‌ها و یا از تجزیه باکتریایی فرآورده دفعی جلبک‌ها، متابولیت به وجود می‌آید. متیل ایزوبورنئول^۱ و ژئوزمین^۲ توسط اکتینومیست‌ها و جلبک‌های سبز آبی و ایزوبوتیل متوکسی پارازین^۲ به وسیله اکتینومیست‌ها تولید می‌شوند. این ترکیبات به علت حساسیت بینی انسان در تشخیص آنها در گستره غلظت ppt برای مصارف آب از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. به علاوه جلبک‌های سبز آبی می‌توانند مرکاپتان‌ها (ترکیبات آلی بوزای گوگردی) را نیز تولید کنند [۲].

رشد جلبک در منابع آب در تصفیه آب شرب و استفاده از آن مشکلاتی ایجاد می‌کند. همچنین رشد جلبکی باعث آزادسازی مواد سمی در آب شده که طعم و بوی آب را در فصل تابستان تغییر

در مناطقی که نور کافی خورشید و مواد مغذی زیاد مانند نیتروژن و فسفر وجود دارد، جلبک‌ها فراوان‌ترین میکروارگانیسم‌های موجود در منابع آب به شمار می‌روند [۱]. جلبک‌ها ارگانیسم‌های ساده، اتوتروفیک، فتوسنتز کننده و دارای کلروفیل هستند و شایع‌ترین دلیل طعم و بوی آب‌های سطحی به حساب می‌آیند. بسیاری از جلبک‌ها رنگدانه‌های متفاوتی دارند و بنابراین به رنگ‌های مختلف وجود دارند. برخی از جلبک‌ها لایه بیولوژیکی لزجی تولید می‌کنند که با فرایند تصفیه آب تداخل ایجاد می‌کند. هنگام شکوفایی جلبکی در مخازن، این میکروارگانیسم‌ها با ایجاد کدورت و رنگ و تداخل با فرایندهای انعقاد و ته‌نشینی، سبب گرفتگی شدید صافی‌ها می‌شوند. مواد شیمیایی تولید شده به وسیله جلبک‌ها به عنوان پیش‌ساز عمل کرده و مشکلات مختلف طعم و بو را به همراه دارند.

¹ Methyl Isoborneol (MIB)

² Isobutyl Methoxy pyrazine (IMBP)

به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از اثر سمیت نانوذرات اکسید مس است [۱۳].

بررسی‌های انجام شده در زمینه جلوگیری از رشد جلبک با استفاده از نانوذرات بسیار اندک است و بیشتر در سال‌های اخیر انجام شده است و هنوز تحقیقات در این زمینه ادامه دارد. در این پژوهش با تولید نانوذرات اکسید روی و استفاده از غلظت‌های حدود ۱ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر، از رشد جلبک‌های سبز کلادوفورا^۴ و اوگلنا^۵ در آب جلوگیری شد. نانوذرات اکسید روی در آب باعث تخریب سلولی جلبک شده و از رشد آن جلوگیری می‌کند.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تولید نانوذرات اکسید روی

برای تولید نانوذرات اکسید روی از استات روی و آب به‌عنوان پیش‌ماده و حلال استفاده شد. روش تولید نانوذرات اکسید روی با روش رسوب‌گذاری شیمیایی انجام می‌شود [۱۴]. برای انجام کار ابتدا مقدار مشخصی از استات روی در حلال آب حل و روی همزن مغناطیسی با دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا محلولی شفاف حاصل شود. بعد از گذشت نیم ساعت مقداری اتیلن‌گلیکول برای جلوگیری از کلوخه شدن نانوذرات به محلول اضافه شد و واکنش تا جایی که یک دهم از محلول اولیه باقی بماند، ادامه یافت. سپس محلول باقیمانده در دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس در خشک‌کن به مدت ۱۲ ساعت خشک شد. نمونه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. در پایان، نمونه‌های به دست آمده با استفاده از دستگاه‌های مختلف از قبیل میکروسکوپ الکترونی عبوری^۶ و پراش اشعه ایکس^۷ مشخصه‌یابی شدند.

۲-۲- نمونه‌برداری و شناسایی جلبک

به منظور شناسایی و تشخیص جلبک‌های موجود، در خرداد ۱۳۸۹ عملیات نمونه‌برداری از سد یامچی اردبیل انجام شد. نمونه‌ها از چند نقطه و در اعماق ۲۰ سانتی‌متری زیر سطح آب برداشت شدند. جلبک‌های چسبیده به دیواره کانال نیز توسط تیغه فلزی تراشیده و از سطح دیواره‌ها جمع شدند.

۲-۳- شرایط کشت جلبک‌ها

در این پژوهش برای رشد جلبک از محیط کشت بلدبازال اصلاح

می‌دهد [۴ و ۳]. برای جلوگیری از رشد جلبک از مواد مختلفی همچون مس استفاده می‌شود. همچنین در قرن بیستم از پلیمرهای آلی همچون تری‌بوتیل‌تین^۱ برای جلوگیری از رشد جلبک در کانال‌های انتقال آب استفاده شده است، اما به دلیل سمیت TBT بر روی ماهی‌ها و آبزیان، استفاده از آن در ایالات متحده آمریکا ممنوع شده است [۴]. همچنین برای کنترل جلبک در کانال‌های انتقال آب از پوشش‌های سیمانی حاوی بیوساید استفاده شده است. گونه‌های مختلف شیمیایی در بتن برای جلوگیری از رشد جلبک استفاده شده است. نتایج نشان داده است که از بین این گونه‌ها، برمید آمونیوم و اکسید روی بهترین کاهش رشد جلبک در کانال‌های انتقال آب را داشته‌اند [۵].

فلزاتی همچون روی نیز باعث کشیدگی و نازک شدن سلول جلبک و کاهش کلروفیل- α و کلروفیل- β می‌شوند [۶، ۷ و ۸]. فلز روی در غلظت‌های بالا یک ماده سمی برای آبزیان به‌شمار می‌آید ولی در غلظت‌های پایین، برای تولید اسید نوکلئیک و آنزیم‌ها ضروری به نظر می‌رسد، اما فلز روی جزو فلزات سنگین محسوب شده و باعث پایین آمدن کیفیت آب می‌شود [۹].

اکسید روی با استفاده از خاصیت فتوکاتالیستی با آزاد شدن یون Zn^{+2} خود می‌تواند باعث غیر فعال شدن دیواره سلولی جلبک شود. در همین راستا هانگ و همکاران با پوشش اکسید روی بر روی آلومینای گاما به‌عنوان فتوکاتالیست از فعالیت سیانوباکترها تا ۹۲ درصد جلوگیری نمودند [۱۰]. همچنین اثرات نانو ذرات اکسید مس، اکسید روی و نقره روی رشد باکتری‌ها، قارچ و جلبک توسط اروجا و همکاران بررسی شده است [۱۱]. نتایج نشان داده است که اثر سمیت نانوذرات اکسید روی بر جلبک‌ها در مقایسه با سایر نانو ذرات مطالعه شده بیشتر است. همچنین آنها نشان دادند که اکسید روی توده و نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های پایین دارای سمیت مشابه با سولفات روی نسبت به جلبک ساپکاپیتینا سودوکریچ نریلا^۲ است. در غلظت‌های پایین، نانوذرات اکسید روی به‌طور خیلی کم در آب قابل حل است که باعث آزاد شدن یون Zn^{2+} شده و این یون‌ها باعث غیر فعال شدن سلول جلبک و عدم رشد آن می‌شوند [۱۱]. نانو ذرات اکسید روی کاهش خوبی در رشد میکروجلبک‌های تک سلولی از خود نشان می‌دهند. کمینه غلظت مورد استفاده برای عدم رشد میکروجلبک‌های تک سلولی حدود ۱۰۰ میلی‌مولار است [۱۲]. پژوهش‌های انجام شده بر روی مژه‌داران^۳ نشان داده است که اثر سمیت نانوذرات اکسید روی

⁴ Cladophora

⁵ Euglena

⁶ Transmission Electron Microscope (TEM)

⁷ X-ray Diffraction (XRD)

¹ Tributyltin (TBT)

² Pseudokirchneriella Subcapitata

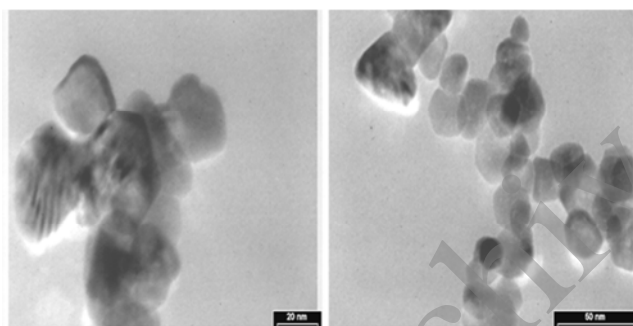
³ Ciliata

اکسید روی، از آزمایش منحنی رشد جلبک استفاده شد. در این آزمایش میزان ۰/۴ گرم توده مرطوب جلبک به عنوان بیومس اولیه در ارلن های ۲۵۰ میلی لیتر که حاوی ۱۵۰ میلی لیتر محیط کشت بلدبازل بودند، ریخته شد و سپس در زمان ثابت ۳۰ روز رشد جلبک بررسی شد. به منظور بررسی میزان رشد جلبک، از اندازه گیری وزن مرطوب بیومس بعد از سانتریفوژ کردن جلبک های رشد کرده، استفاده شد. نمونه های موجود در ارلن ها، درون ویال های سانتریفوژ ریخته شد و به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۴۰۰۰ rpm برای جداسازی کامل محلول از جلبک، سانتریفوژ شد. برای هر غلظت سه تکرار صورت گرفت و میانگین آنها برای ترسیم منحنی رشد جلبک استفاده شد. تعداد نمونه ها در این بخش با سه بار تکرار، ۴۲ نمونه بود.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مشخصه یابی نانوذرات اکسید روی

تصویر TEM نانوذرات اکسید روی در شکل ۱ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود قطر نانوذرات در حدود ۱۰ تا ۳۰ نانومتر و مورفولوژی نانوذرات به صورت شش وجهی است.



شکل ۱- تصاویر TEM نانوذرات اکسید روی

برای شناسایی و فاز نانوذرات تولیدی از XRD استفاده شد. در پراش اشعه ایکس یک پرتو موازی شده از پرتوهای اشعه ایکس با طول موج بین ۲ تا ۷ آنگستروم روی نمونه تایید می شود و در نمونه بر حسب قانون براگ، پراش اتفاق می افتد. این الگوی پراش برای مشخص کردن فازهای کریستالی نمونه و اندازه گیری خصوصیات ساختاری آنها استفاده می شود. پراش اشعه ایکس یک روش غیر مخرب است و به آماده سازی نمونه نیاز ندارد.

در شکل ۲ نمودار پراش اشعه ایکس نانوذرات اکسید روی نشان داده شده است. مشاهده می شود که تمامی پیک ها مطابق با فاز اکسید روی (شش گوشه متقارن) است و هیچ پیک اضافی مشاهده نمی شود. همچنین پهنای پیک ها نسبت به حالت بالک اکسید روی

شده استفاده شد [۱۵]. در جدول ۱ ترکیب اجزای محیط کشت و مقادیر آن نشان داده شده است.

محلول های ذخیره هر ماکرونوترینت که در جدول بیان شده است، در غلظت های ۱۰ برابر تهیه شد و ۱ میلی لیتر از هر محلول ذخیره به ۱ لیتر محیط کشت اضافه شد.

به منظور بهینه کردن شرایط رشد جلبک و فراهم کردن دما و نور استاندارد مورد نیاز، از یک هود آزمایشگاهی استفاده شد.

با سه عدد لامپ مهتابی میزان نور مورد نیاز رشد جلبک ها (۳ کیلو لوکس) فراهم شد. این سیستم نوردهی به یک تایمر مجهز بود که زمان روشنایی - خاموشی ۱۲ ساعته را فراهم می نمود. تنظیم به گونه ای انجام شد که ساعات خاموشی در شب و ساعات روشنایی در روز باشد.

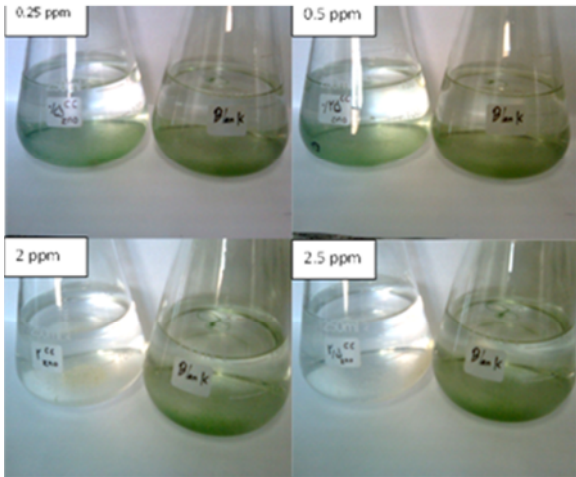
سیستم تنظیم دما شامل دماسنج، کنداکتور و فن هیتر بود. برای کشت جلبک ها از دمای ۲۹ درجه سلسیوس استفاده شد. نمونه های کشت داده شده به مدت ۲۵ تا ۳۰ روز در این شرایط انکوبه شدند و سپس مراحل شناسایی و تشخیص جلبک ها انجام شد.

جدول ۱- ترکیب محیط کشت بلدبازل

غلظت	مواد
۲/۹mM	NaNO ₃
۰/۳mM	MgSO ₄
۰/۴۳mM	NaCl
۰/۴۳mM	K ₂ PHO ₄
۱/۲۹mM	KH ₂ PO ₄
۳۰/۷mM	CaCl ₂ , 7H ₂ O
۷/۳μM	MnCl ₂ , 4H ₂ O
۴/۹μM	MoO ₃
۸/۳μM	CuSO ₄ . 5H ₂ O
۱/۷μM	CoNO ₃
۰/۱۸mM	H ₃ BO ₃
۰/۱۷mM	EDTA
۰/۵۵mM	KOH
۱۷/۹μM	FeSO ₄ , 7H ₂ O
۱۰μM	H ₂ SO ₄

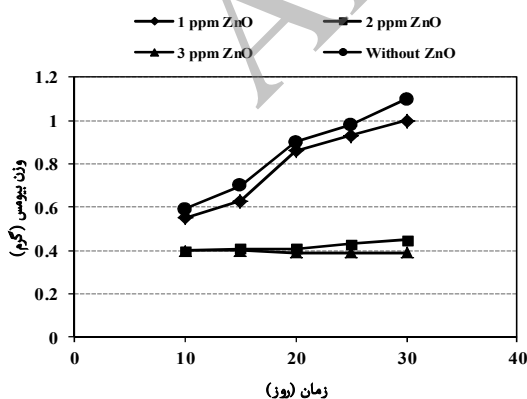
۲-۲- بررسی اثر بازدارندگی نانوذرات اکسید روی بر رشد جلبک ها

به منظور بررسی میزان رشد جلبک در غلظت های مختلف نانوذرات

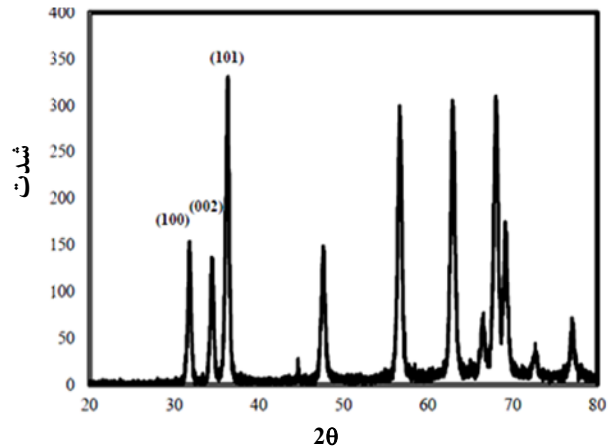


شکل ۴- تصاویر روند کاهش رشد جلبک با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی

به منظور بررسی اثر زمان بر رشد جلبک، از غلظت ثابت ppm ۲، ۳ و ۱ نانوذرات اکسید روی و بدون نانوذرات استفاده شد. مقدار بیومس اولیه ۰/۴ گرم بود. زمان‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ روز برای رشد جلبک در نظر گرفته شد. همان‌گونه که در شکل ۵ مشخص است در غلظت‌های پایین‌تر از ۲ ppm نانوذرات اکسید روی، با گذشت زمان، مقداری جلبک رشد کرده و مقدار بیومس اولیه افزایش یافته است. اما در غلظت‌های بالای ۲ ppm با گذشت زمان نه تنها رشد جلبک‌ها متوقف شده بلکه جلبک‌ها تجزیه شده‌اند. بنابراین با غلظت‌های بیشتر از ۲ ppm می‌توان از رشد جلبک در آب جلوگیری نمود. تحقیقات نشان داده است که نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های زیر ۳ ppm، اثر سمیتی بر روی آبزیان نداشته است، اما در غلظت‌های بالای ۳ ppm باعث مسمومیت آبزیان شده که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد [۱۷].



شکل ۵- روند رشد جلبک بر حسب زمان در غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی

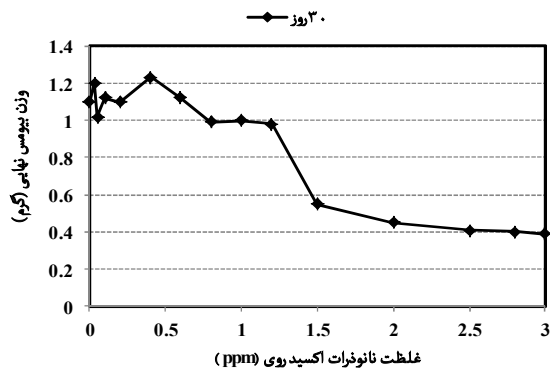


شکل ۲- نمودار XRD نانوذرات اکسید روی

پهن‌تر است. صفحات بلوری مربوط به پیک‌های اصلی بر روی آنها در نمودارهای پراش اشعه ایکس مشخص شده‌اند.

۳-۲- جلوگیری از رشد جلبک با نانوذرات اکسید روی همان‌طور که از شکل ۳ پیداست، با افزایش غلظت نانوذرات، رشد جلبک کاهش یافته و در غلظت‌های بیشتر از ۲/۵ ppm جلبک‌ها تجزیه شده و از وزن بیومس اولیه (۰/۴ گرم) کم شده است. فعالیت سمیت نانوذرات اکسید روی نسبت به سلول جلبک‌ها به دلیل تولید پراکسید هیدروژن از سطح نانوذرات در مجاورت آب است. اکسید روی در مجاورت نور مرئی یا ماورای بنفش فعال شده، می‌تواند تولید جفت الکترون حفره نماید. حفره‌ها H_2O را به OH^- و H^+ تبدیل می‌کنند. سپس آن‌ها با یون هیدروژن واکنش داده و تولید پراکسید هیدروژن می‌نمایند. پراکسید هیدروژن تولیدی می‌تواند غشای سلولی را سوراخ کرده و باعث مرگ سلول شود [۱۶].

در شکل ۴ مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی، غلظت کلروفیل و سبزی نمونه‌ها کاهش یافته است که دلالت بر کاهش رشد جلبکی دارد.



شکل ۳- نمودار رشد جلبک بر حسب غلظت نانوذرات اکسید روی

۴- نتیجه‌گیری

قابل توجهی در میزان رشد جلبک‌ها مشاهده شد؛ به طوری که در غلظت‌های ۱ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر، به تدریج رشد جلبک‌ها کاهش قابل توجهی داشت. اما در غلظت‌های بالای ۲ ppm، با گذشت زمان نه تنها رشد جلبک متوقف شد، بلکه تجزیه جلبک‌ها اتفاق افتاد. بنابراین با توجه به نتایج ذکر شده در بالا، می‌توان برای جلوگیری از رشد جلبک در منابع آب و سدهای انتقال آب از نانوذرات اکسید روی استفاده نمود و کیفیت آب را افزایش داد.

۵- قدردانی

از کمیته تحقیقات شرکت آب منطقه‌ای اردبیل به دلیل حمایت مالی از این تحقیق کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

در این پژوهش که برای شناسایی و مبارزه با جلبک‌های منابع آب با استفاده از نانوذرات اکسید روی (مطالعه موردی سد یامچی اردبیل) انجام شد، مشخص شد که گونه‌های کلادوفورا و اوگلنا فراوانی بیشتری دارند. از سایر گونه‌های موجود در نمونه‌ها که به تعداد کمتری مشاهده شدند، می‌توان به دیاتومه و ولوکس اشاره نمود.

به منظور تعیین دز مهار کننده رشد جلبک‌ها ابتدا از غلظت‌های کم نانوذرات استفاده شد. نتایج نشان داد که در غلظت‌های کمتر از ۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی، کاهش در رشد جلبک‌ها مشاهده نمی‌شود. در غلظت‌های بیش از ۱ میلی‌گرم در لیتر، کاهش

۶- مراجع

- Grant, W.D., and Tindall, B.J. (1986). "The alkaline saline environment." In *Microbes in extreme environments*, Academic Press, London.
- Qasim, S.R., Motley, E.D., and Zhu, G. (2000). *Water works engineering: Planning, design and operation*, Prentice-Hall, New Jersey.
- Carmichael, W.W. (1992). "A review, cyanobacteria secondary metabolites –the cyanotoxins." *J. Appl Bacteriol*, 72, 445-459.
- Fleming, L.E., Rivero, C., Burns, J., Williams, Ch., Ean, A.J., Shea, K.A., and Stinn, J. (2002). "Blue green algal (cyanobacterial) toxins, surface drinking water, and liver cancer in Florida." *Harmful Algae*, 1 (2), 157-168.
- Yonehara, Y. (2000). "Recent topics on marine antifouling coatings." *Bull. Soc. Sea Water Sci. Jpn.*, 54, 7-12.
- Kupper, H., Setlik, I.M., Kupper, F.C., and Prasil, O. (2002). "Heavy metal-induced inhabitation of photosynthesis: Target of in vivo heavy metal chlorophyll formation." *J. Phycol.*, 38, 429-241.
- Villadaa, L. G., Ricob, M., Altamiranoa, M., Sanchez-Martina, L., Lopez-Rodasa V., and Costasa E. (2004). "Occurrence of copper resistant mutants in the toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*: Characterization and future implications in the use of copper sulphate as algaecide." *Water Res.*, 38, 2207-2213.
- Paulsson, M., Nystrom, B., and Hans, B. (2000). "Long-term toxicity of zinc to bacteria and algae in periphyton communities from the river Gota Alv, based on a microcosm study." *Aquat Toxicol.*, 47, 243-257.
- Powell, C. (1996). "Disease doctor – how can algae buildup on porous surfaces in greenhouses be removed?." *Greenhouse Business*, 41pp.
- Huang, W., Lin, T., and Shin, F. (2011). "Photocatalytic inactivation of cyanobacteria with ZnO/g-Al₂O₃ composite under solar light." *J. Environ. Biol.*, 32, 301-307.
- Aruoja, V., Dubourguier, C., Kasemets, K., and Kahru, A. (2009). "Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*." *Science of the Total Environment*, 407, 1461-1468.
- Aravantinou, A. F., Tsarpali, V., Dailianis, S., and Manaritotis, I.D. (2013). "Zinc Oxide (ZnO) nanoparticles toxic potency on different microalgae species." *Geophysical Research*, 15, 11084-11084.

13. Mortimer, M., Kasemets, K., and Kahru, A. (2010). "Toxicity of ZnO and CuO nanoparticles to ciliated protozoa *Tetrahmena thermophila*." *Toxicol*, 269, 182-189.
14. Alum, A., Rashid, A., Mobasher, B., and Abbaszadegan, M. (2008). "Cement-based biocide coatings for controlling algal growth in water distribution canals." *Cement and Concrete Composites Agricultural*, 30, 839-847.
15. Mane, P.C., Bhosle, A.B., Jangam, CM., and Vishwakrama, C.V. (2011). "Bioadsorption of selenium by pretreated algal biomass." *J. of Pelagia Research Library*, 2, 202-207.
16. Eskandari, M., and Haghghi, N., Ahmadi, V., Haghghi, F., and Mohammadi, Sh.R. (2011). "Growth and investigation of antifungal properties of ZnO nanorod arrays on the glass." *Physica B*, 406, 112-114.
17. Yu L.P., Fang, T., Xiong, D.W., Zhu, W.T., and Sima, X.F. (2011). "Comparative toxicity of nano-ZnO and bulk ZnO suspensions to zebrafish and the effects of sedimentation, OH production and particle dissolution in distilled water." *J. Environ. Monit.*, 13, 1975-1982.