Archive of SID

مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۵، دوره ۷۱، شماره ۲، ۲۱۹-۲۲۷
Original Article
Journal of Veterinary Research. 71,2:219-227, 2016

بررسی سمیت نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره الکلی جلبک دریایی سارگاسوم آنگوستیفولیوم در ماهی کپور معمولی

سراج بیتا[1*] مهرزاد مصباح[2] علی شهریاری[3] مسعود قربانپور نجف آبادی[4]

۱) دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار- ایران
۲) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران
۳) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران
۴) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران

(دریافت مقاله: ۲۴ بهمن ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۱۷ فروردین ماه ۱۳۹۵)

چکیده

زمینه مطالعه: استفاده از اصول شیمی سبز در سنتز نانو مواد دارای اهمیت ویژه‌ای در بحث نانوبیوتکنولوژی و زیست پزشکی می‌باشد، بنابراین اخیرا سنتز نانوذرات نقره با استفاده از گیاهان و جلبک‌های دریایی با روش بیولوژیکی به‌دلیل سازگاری این روش با محیط زیست خیلی متداول شده است. **هدف:** هدف از این مطالعه سنتز زیستی نانوذرات نقره با استفاده از عصاره الکلی جلبک *Sargassum angustifolium* و بررسی سمیت آن در ماهی کپور معمولی می‌باشد. **روش کار:** در این مطالعه سنتز زیستی نانوذرات نقره با استفاده از عصاره الکلی جلبک سارگاسوم با روش خارج سلولی انجام شد. در این روش عصاره‌گیری با استفاده از متانول صورت گرفت، سپس غلظت کشنده نانوذره نقره مذکور بر اساس روش استاندارد O.E.C.D به صورت ساکن (static renewal) و به مدت ۹۶ ساعت در ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت. **نتایج:** بر اساس نتایج میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، نانوذرات سنتزشده دارای شکل کروی و با اندازه ۰/۰۶۲ ± ۴۲/۳۱ nm بودند. نتایج سمیت نشان داد که میزان LC_{50} در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از مجاورت ماهیان با نانوذرات نقره سنتز شده به‌ترتیب ۰/۰۰۴ ± ۷۷/۹۱، ۰/۰۱۲ ± ۵۰/۵۶، ۰/۰۰۷ ± ۲۹/۰۱ و ۰/۰۱۹ ± ۹/۷۳ mg/l و میزان حداکثر غلظت مجاز و LOEC، به ترتیب ۰/۹۷ mg/l و ۲/۵، محاسبه شد. **نتیجه‌گیری نهایی:** آنالیزهای مربوط به مشخصه‌یابی و تعیین ویژگی‌های نانوذرات نشان دهنده تأیید سنتز نانوذرات نقره و احیاء یون‌های نقره توسط عصاره الکی جلبک سارگاسوم می‌باشد. طبق نتایج به دست آمده از تست سمیت، میزان تلفات در ماهی کپور معمولی با افزایش غلظت و افزایش زمان مجاورت روند افزایشی نشان داد که نشان دهنده سمی بودن این ماده در غلظت‌های بالا برای ماهی کپور معمولی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سنتززیستی، سمیت، جلبک دریایی *Sargassum angustifolium*، نانوذرات نقره، کپور معمولی

مقدمه

ویژگی‌های منحصر به فرد نانوذرات مانند اندازه بسیار کوچک به نحوی که قادر به ورود به داخل سلول یا بافت هدف هستند، سبب کاربرد آنها در حوزه‌های متفاوتی از علوم زیستی شده است و در نهایت منجر به تولد گرایش جدیدی از این فناوری، یعنی "نانوبیوتکنولوژی" شده است (۲۰). در صنعت شیلات و آبزی پروری نیز، نانوذرات نقره کاربردهای گوناگونی یافته‌اند که از آن جمله می‌توان به ساخت نانو فیلترها، ساخت انکوباتور با استفاده از سطوح پوشش داده شده با نانوذرات نقره و استفاده از رنگ‌های حاوی نانوذرات نقره در دیواره استخرها و حوضچه‌های نگهداری ماهیان به منظور ایجاد سطوح آنتی باکتریال، اشاره کرد (۲۶). معمولاً نانوذرات فلزی با استفاده از روش‌های شیمیایی، مکانیکی (۳،۳۵) و الکتروشیمیایی (۲۵) سنتز می‌شوند در این روش‌ها جهت سنتز نانوذرات نقره از ترکیبات شیمیایی سمی استفاده می‌شود که می‌توانند اثرات منفی زیادی هم بر روی محیط آب و هم آبزیان داشته باشد اگر استفاده از نانوفناوری‌های نقره گسترش یابد، امکان افزایش غلظت‌های نقره در طبیعت، به صورت محلی و منطقه‌ای، حتی بیشتر از سطوح حداکثر نقره محلول مشاهده شده در آب‌های آلوده از نظر تاریخی نیز، وجود خواهد داشت که این موضوع نگرانی‌های مربوط به خطرات اکولوژیکی را تشدید می‌سازد (۱۹). به خاطر اثرات مخرب این روش‌ها بر محیط زیست و آبزیان، در حال حاضر یکسری روش‌های جایگزین برای سنتز این نانومواد که با محیط زیست سازگاری بهتری داشته و آلودگی کمتری ایجاد کنند ضروری بنظر می‌رسد یکی از این روش‌ها، روش بیولوژیکی می‌باشد در این روش تلاش شده است که برای سنتز نانو ذرات فلزی به جای مواد شیمیایی و سمی از میکروارگانیسم‌ها و مواد گیاهی که در طبیعت وجود دارند، استفاده شود تا از آلوده شدن محیط زیست جلوگیری شده و اثرات سمی کمتری در مقایسه با نانوذرات سنتز شده با روش شیمیایی داشته باشد. یکی از این منابع که می‌توانند در بحث نانوتکنولوژی و سنتز نانوذرات مورد استفاده قرار گیرند گیاهان دریایی یا جلبک‌های دریایی هستند که به‌دلیل فراوانی و دارا بودن انواع ترکیبات فیتوشیمیایی متنوع از قبیل پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، آلکالوئیدها، استروئیدها، فنول‌ها، ساپونین و فلاونوئیدها (۲۰) می‌توانند نقش مهمی در احیاء یون‌های فلزی و تبدیل آن به فرم نانو را به شکل خارج سلولی داشته باشند. ماهی کپور معمولی متعلق به خانواده کپورماهیان و از ماهیان گرمابی پرورشی مهم و با اهمیت اقتصادی بالا در استان خوزستان می‌باشد. در

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۵۴-۳۱۲۷۲۱۹۷، نمابر: ۰۵۴-۳۵۳۲۴۲۶۴، Email: serajbita@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

سال‌های اخیر مطالعات متعددی در رابطه با تأثیر سمیت نانوذرات نقره سنتز شـده با روش‌های شیمیایی بر ماهیان توسط محققین مختلف انجام شده است (۱،۲،۴،۸،۹،۱۱،۱۶،۳۱). بنابراین بررسی سمیت نانوذرات سنتزشده با روش بیولوژیکی نیز قبل از توسعه هرچه بیشتر این روش سنتزی در صنعت نانوتکنولوژی، ضروری به‌نظر می‌رسد. مطالعه حاضر اولین مطالعه در زمینه سـمیت نانوذرات نقره سنتز شـده با روش بیولوژیکی بر روی ماهی کپور معمولی می‌باشـد. نتایج این مطالعه می‌تواند به وضع استانداردها و قوانین زیست محیطی نانوذرات کمک کند.

مواد و روش کار

سنتز نانوذرات نقره با جلبک دریایی *Sargassum angustifolium*: جلبـک دریایـی *Sargassum angustifolium* پـس از جمع‌آوری از سواحل بوشهر به آزمایشگاه بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال داده شدند. در آنجا پس از شستشو با آب مقطر به مدت یک هفته در زیر سایه قرار داده شدند تا خشک گردند (۳۰). نمونه‌های خشک‌شـده توسط گریندر به شکل پودر در آورده شدند برای تهیه عصاره متانولی، ۱۰g از پودر خشـک شده جلبک با ۴۰cc متانول مخلوط مخلوط شـده و به مدت ۱۰ سـاعت به حالت سکون ماند. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۵ دقیقه با سـرعت ۴۰۰۰rpm دوبار سانتریفیوژ گردید و محلول رویی با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۱،NO، فیلتر شد. جهت حذف حلال از عصاره از اپراتور تحت خلاء اسـتفاده گردید. برای سـنتز نانوذرات نقره از محلول نیترات-نقره به‌عنوان دریافت‌کننده یا پیش‌ساز استفاده شد. مقدار ۱۷ mg نیترات‌نقره در ۱۰۰ cc آب‌مقطر حل شد. به‌منظور احیاء یون‌های Ag^{+}، ۱۰ cc عصاره جلبک به ۹۰cc محلول نیترات‌نقره ۱mM اضافه شد (۱۳). در نهایت برای تعیین ویژگی‌ها و اطمینان از تولید و کیفیت نانوذرات‌نقره سنتز شده از دستگاه‌های طیف‌سـنج‌فرابنفش‌مرئی (UV-vis) مدل Perkin-Elmer, Lambda ۱۲ (جهت ی سـنتز نانوذرات نقره) ، میکروسـکوپ الکترونـی عبوری (TEM) مدل LEO ۹۰۶E (برای تعیین شـکل و اندازه نانوذرات و توزیع ذرات) استفاده شد.

تهیه و شرایط نگهداری ماهیان: تعداد ۱۰۰۰ قطعه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۱۶/۴۵g ± ۷۸/۹۹ (انحراف معیار ± وزن)، از مزارع پرورش ماهی اطراف شوشتر تهیه و به آزمایشگاه تحقیقاتی بخش بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردیدند. ماهی‌ها برای تطابق با شرایط آزمایشگاه به مدت دو هفته در آکواریوم‌های تمیز و کاملاً ضدعفونی شـده با حجم ۱۵۰ l همـراه با هوادهی ملایم نگهداری شدند و در طول این مدت به میزان ۲٪ وزن بدن، در دو نوبت (صبح و عصر) با غذای کنسانتره تجاری غذادهی شدند.

تعیین سـمیت نانوذرات نقره سـنتز شـده از جلبک دریایی در ماهی کپـور معمولـی: پس از اتمام دوره سـازگاری و ۲۴ سـاعت قبـل از انجام آزمایشـات سـمیت، غذادهی به ماهیان قطع گردیـد. از آنجا که تاکنون مقادیر دقیق غلظت حدکشندگی نانوذرات نقره سنتز شده از جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* در ماهـی کپور معمولی تعیین نشـده بنابراین برای تعیین دوز کشـنده نانوذرات نقره در ابتدا با انجام آزمایشات مقدماتی، مقادیر واقعی حدکشـندگی به-دست آمد. محدوده کشندگی بر اسـاس اولین غلظتی که در مدت ۹۶ ساعت تلفات در آن مشاهده می‌شود و اولیـن غلظتی که ۱۰۰٪ تلفات را در پـی دارد تعیین می‌گردد. برای این کار، ۵ قطعه ماهی در هر آکواریوم با حجم ۵۰ l مجهز به سیستم هوادهی منتقل شده و با غلظت‌های صعودی ۰/۵ mg/l، ۱، ۲/۵، ۵، ۱۵، ۲۵، ۳۵، ۴۵، ۵۵، ۶۵، ۷۵، ۸۵، ۹۵ و ۱۰۵ نانوذرات نقره سنتز شده از جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* مجاور گردیدند. آزمایش‌ها با ۱۴ تیمار و ۳ تکرار با غلظت‌های مذکور انجام شد. در طول هر دو آزمایش مقدماتی و تعیین LC_{50}، حرکات و رفتارماهیان از جمله حرکات سـرپوش آبششی، از دسـت دادن تعادل، تنفس از سطح، رنگ بدن، شنای چرخشی، حرکات پرشـی، اسـتراحت در کف مورد ارزیابی قرار گرفتند. مـرگ و میر به‌طور مداوم بررسی شده و ماهیان زمانی که حرکات سرپوش آبششی و پاسخ به محرک‌های مکانیکی نشان نمی دادند مرده در نظر گرفته می‌شدند (۴). پس از انجام آزمایش مقدماتی و مشـخص نمودن محدوده کشندگی، آزمایش تعیین LC۵۰ بر اساس روش استاندارد O.E.C.D در سال ۱۹۹۸ به صورت ساکن (static renewal: تعویض آب هر ۲۴ ساعت یک‌بار و جایگزینی مجدد غلظت‌های مورد نظر) و به مدت ۹۶ ساعت در ۶ تیمار با غلظت‌های ۸۰mg/l، ۴۰، ۲۰، ۱۰، ۵ و ۲/۵ نانوذرات نقره سنتز شده از جلبک دریایی همراه با یک تیمار شـاهد و هر کدام در ۳ تکرار مورد بررسـی قرار گرفت. بدین منظور پس از ذخیره-سـازی ماهیان به تعـداد ۵ قطعه ماهی در هر آکواریوم با حجم ۵۰ l تلفات در طی ۴ روز (۹۶ سـاعت)، هر ۲۴ سـاعت یکبار بررسی و ثبت می‌گردد. بعد از ثبت تلفات، اقدام به تعیین LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} در زمان‌هـای ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ سـاعت با حدود اطمینان ۹۵٪ با اسـتفاده از نرم افزار spss نسخه ۲۱ و آزمون استاندارد پروبیت آنالیز شد. حداکثر غلظت مجاز نیز بعد از تعیین ۵۰٪ غلظت کشنده ۹۶ ساعته و تقسیم آن بر عدد ۱۰ محاسبه شد (۳۴). همچنین پیک جذبی نانوذرات نقره که با دسـتگاه UV-vis به‌دست آمده بود با استفاده از نرم افزار Red-R نسخه ۱/۸۰ رسم شد.

نتایج

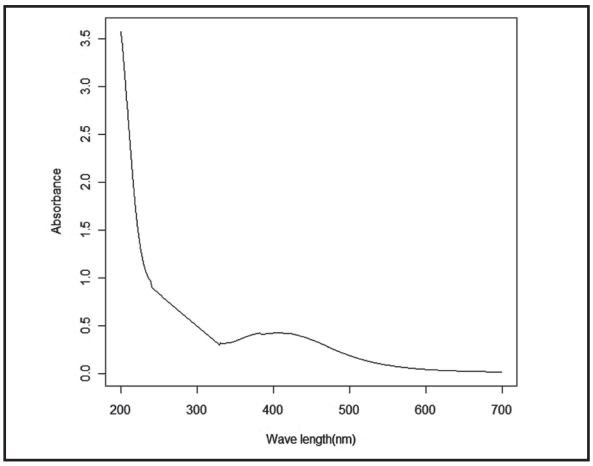
پس از اضافه نمودن نیترات نقره به عصاره جلبک سارگاسـوم، تغییر رنگ کامل محلول حاصل بعد از گذشت ۹۰ دقیقه حاصل شد به‌طوری که رنگ محلول حاصل از قهوه‌ای متمایل به زرد به رنگ قهوه‌ای تیره تبدیل شد (تصویر ۱).

جهت اطمینان از سنتز نانوذرات نقره، پیک جذبی نانوذرات در فواصل

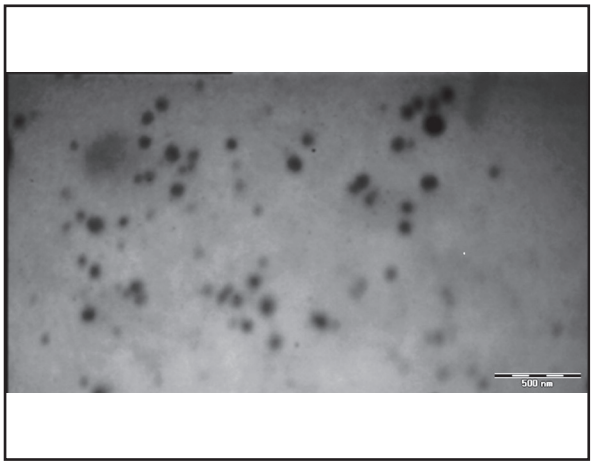
www.SID.ir

Archive of SID

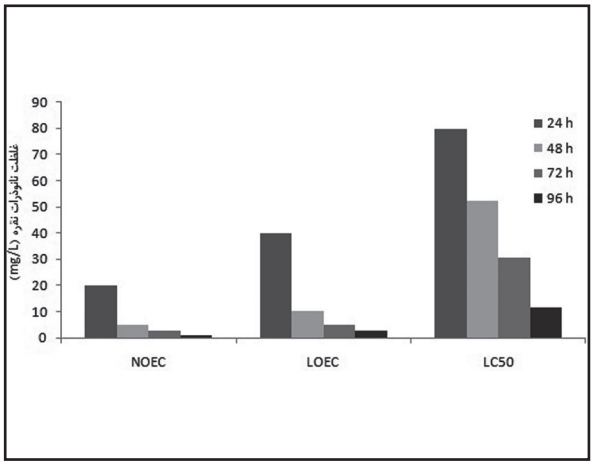
تصویر ۱. تغییر رنگ محلول حاصل با گذشت زمان از قهوه‌ای متمایل به زرد کم‌رنگ به قهوه‌ای تیره پس از اضافه نمودن محلول نیترات نقره.



تصویر ۲. طیف UV-Vis نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از جلبک *Sargassum angustifolium*.



تصویر ۳. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) از نانوذرات نقره سنتزشده.



تصویر ۴. مقایسه مقادیر NOEC، LEOC و LC۵۰ نانوذرات نقره سنتز شده از جلبک سارگاسوم در ماهی کپور معمولی در زمان‌های مختلف.

زمانی مختلف با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش مرئی (UV-Vis) در محدوده طول موج‌های ۷۰۰nm-۲۰۰ اندازه‌گیری شد. بهترین پیک بعد از گذشت ۹۰ دقیقه از زمان واکنش و در محدوده ۴۰۰nm مشاهده شد که پیک تشکیل شده در این محدوده نشان دهنده احیاء یون‌های نقره و در نتیجه سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره جلبک سارگاسوم می‌باشد (تصویر ۲).

طبق تصاویر به‌دست آمده از TEM، میانگین اندازه نانوذرات نقره سنتزشده، ۴۲/۳۱nm و با شکل کروی بودند (تصویر ۳). به طوری که بر اساس تصویر ۳، جدا از شکل کروی و اندازه مناسب نانوذرات نقره سنتزشده، تمام ذرات دارای پراکندگی مناسب بوده و تقریباً به خوبی در همه جای سطح نمونه توزیع شده‌اند و در تماس مستقیم با همدیگر نیستند.

آزمایش سمیت حاد: طبق نتایج آزمایشات مقدماتی که در غلظت‌های صعودی mg/l ۰/۵، ۱، ۲/۵، ۵، ۱۵، ۲۵، ۳۵، ۴۵، ۵۵، ۶۵، ۷۵، ۸۵، ۹۵ و ۱۰۵ نانوذرات نقره سنتز شده از جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* انجام شد، تلفات در ماهیان ۵ ساعت پس از مواجهه در بالاترین غلظت شروع شد و تمامی ماهیان قرارگرفته در غلظت‌های mg/l ۱۰۵، ۹۵ و ۸۵ به‌ترتیب پس از ۱۶، ۲۸ و ۶۸ ساعت تلف شده و میزان مرگ و میر در این غلظت‌ها ۱۰۰٪ بود. به خاطر عدم مرگ و میر در غلظت mg/l ۱ و وجود ۱۰۰٪ مرگ و میر در غلظت mg/l ۸۵ محدوده کشندگی این نانوذرات در ماهی کپور معمولی mg/l ۸۰-۲/۵ به‌دست آمد. بنابراین تست تعیین LC_{50} با غلظت‌های mg/l ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ در ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت و تلفات ماهیان در طی زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت مواجهه ثبت گردید. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت و افزایش زمان مواجهه میزان مرگ و میر ماهیان افزایش یافت. از نظر علایم رفتاری در ماهیان افزایش حرکات سرپوش آبششی، شنای غیرعادی و بیرون پریدن از آب بلافاصله پس از مواجهه با غلظت‌های بالای نانوذرات نقره مشاهده شد به‌طوری که با گذشت زمان فعالیت آنها کمتر شده و به حالت ثابت ابتدا در کف و سپس بر روی سطح آب قرار می‌گرفتند و تعادل‌شان را به‌طور کامل از دست داده و تلف می‌شدند. ماهیان تلف شده دارای رنگ طبیعی بودند. در تیمار شاهد هیچ گونه علایم رفتاری غیرطبیعی مشاهده نشد و ماهیان دارای رفتار کاملاً طبیعی بودند. همچنین در غلظت‌های پایین رفتارهای غیرعادی در مقایسه با غلظت‌های

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. درصد مرگ و میر ماهیان کپور معمولی در مواجهه با غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره در زمان‌های مختلف.

غلظت نانوذرات نقره (mg/L)	درصد مرگ و میر (٪) در زمان‌های مختلف			
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
شاهد	۰	۰	۰	۰
۲/۵	۰	۰	۰	۲۲
۵	۰	۰	۱۵/۱۰	۴۸/۵۲
۱۰	۰	۸/۵۲	۲۷/۵۲	۶۲
۲۰	۰	۲۲	۴۸/۵۲	۸۰
۴۰	۳۵/۱۰	۵۵/۱۰	۷۵/۱۰	۹۵/۱۰
۸۰	۴۲	۷۵/۱۰	۹۵/۱۰	۱۰۰

بالا کمتر مشاهده می‌شد.

طی آزمایش سمیت حاد میزان تلفات در تیمار شاهد در طی ۹۶ ساعت و همچنین در غلظت ۲/۵ mg/l تا مدت زمان ۷۲ ساعت صفر بود. اولین تلفات در غلظت ۴۰ mg/l در زمان ۲۴ ساعت مشاهده شد. عمده تلفات در مواجهه با نانوذرات نقره در زمان و غلظت‌های بالا بوده است (جدول ۱) به‌طوری‌که در غلظت ۸۰ mg/l بعد از ۹۶ ساعت مواجهه، ۱۰۰٪ مرگ و میر مشاهده شد. در غلظت ۲/۵ mg/l که کمترین غلظت انتخابی برای تعیین LC۵۰ در مطالعه حاضر مشخص شده است تلفات فقط در زمان ۹۶ ساعت پس از مواجهه با نانوذرات نقره سنتزشده مشاهده گردید.

نتایج نشان داد که میزان $LC_{۵۰}$ در ماهی کپور معمولی بعد از مواجهه با نانوذرات نقره سنتز شده از جلبک دریایی سارگاسوم در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به‌ترتیب ۰/۰۰۴ ± ۷۷/۹۱ mg/l، ۰/۰۱۲ ± ۵۰/۰، ۰/۰۰۷ ± ۲۹/۰۱ و ۰/۰۱۹ ± ۹/۷۳ می‌باشد. میزان $LC_{۱۰}$، $LC_{۵۰}$ و $LC_{۹۰}$ در طی ۹۶ ساعت به‌ترتیب ۰/۰۱۹ ± ۰/۰۵، ۰/۰۱۹ ± ۹/۷۳ و ۰/۰۱۹ ± ۲۲/۸۱ mg/l تعیین گردید که نشان دهنده سمیت بیشتر نانوذره مذکور در غلظت‌های بالاتر می‌باشد. طبق جدول ۲ میزان $LC_{۵۰}$ با افزایش زمان مواجهه، کاهش یافته است ($LC_{۵۰-۲۴\,h}$ ۰/۰۰۴ ± ۷۷/۹۱ mg/l, $LC_{۵۰-۹۶\,h}$ ۰/۰۱۹ ± ۹/۷۳ mg/l) که نشان می‌دهد هرچقدر زمان مواجهه با نانوذرات نقره در ماهی کپورمعمولی افزایش یابد، غلظت کمتری از نانوذرات نقره برای مرگ ومیر ۵۰٪ ماهیان نیاز می‌باشد. حداکثر غلظت مجاز نانوذرات نقره مذکور برای ماهی کپور معمولی در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به‌ترتیب ۷/۷۹ mg/l، ۵/۰۶، ۲/۹۰ و ۰/۹۷ تعیین گردید.

همچنین مقادیر حداقل غلظت مؤثر (LOEC) و غلظت بدون تاثیر نانوذرات نقره (NOEC) و حداکثر غلظت مجاز (MATC) که از مقادیر LC محاسبه شد به ترتیب ۲/۵ mg/l، ۱ و ۰/۹۷ بدست آمد.

بحث

در انجام تست سمیت مواد شیمیایی در آبزیان، تعیین محدوده کشندگی سم اولین مرحله از مطالعات توکسیکولوژی است که به بررسی غلظت کشنده میانگین یا $LC_{۵۰}$ مواد شیمیایی محلول در آب می‌پردازد. سمیت یون نقره نسبت به نانوذرات نقره بهتر درک شده است. یون نقره سمیت بسیار بالایی برای ماهی ایجاد می‌کند (۲۲). سمیت نانوذرات نقره سنتزشده با روش شیمیایی بر ماهیان و سایر آبزیان در مطالعات گوناگون توسط محققین مختلفی گزارش شده است (۳۹، ۱۰، ۴). در روش شیمیایی سنتز نانوذرات، استفاده از ترکیبات شیمیایی سمی بیشتر در مقایسه با روش بیولوژیکی، سبب شده تا استفاده از آنها در زیست پزشکی به‌ویژه در زمینه‌های کلینیکی، کشاورزی، دامپزشکی و شیلات به دلیل ناسازگاری و آلودگی محیط زیست و اثرات منفی آنها بر روی اکوسیستم‌های آبی با محدودیت مواجه شود، بنابراین، اخیرا سنتز نانوذرات نقره با استفاده از گیاهان و جلبک‌های دریایی به خاطر سازگاری این روش با محیط زیست، خیلی متداول شده است (۱۸،۳۲). بنابراین لازم است که سمیت نانوذرات نقره سنتزشده با روش بیولوژیکی که در سنتز آن از منابع زیستی موجود در طبیعت استفاده می‌شود نیز شناخته شود. در این تحقیق سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی جلبک *Sargassum angustifolium* به صورت خارج سلولی و با روش بیوژیکی انجام شد. نانوذرات نقره از طریق احیاء Ag^{+} به Ago با اضافه نمودن عصاره جلبک به محلول ۱ mM نیترات نقره تشکیل شدند. عمل احیاء یون‌های نقره در محلول حاصل به‌وسیله برخی از ترکیبات از جمله فلاونوئیدها، آنزیم‌ها، پروتئین‌ها و غیره که در جلبک قهوه‌ای سارگاسوم وجود دارند انجام می‌شود (۱۵). به خوبی شناخته شده که نانوذرات نقره پس از سنتز با استفاده از جلبک‌های قهوه‌ای به رنگ قهوه‌ای متمایل به قرمز یا تیره تبدیل می‌شوند (۱۳)، بنابراین در مطالعه حاضر تغییر رنگ محلول حاصل از قهوه‌ای متمایل زرد کم رنگ به رنگ قهوه‌ای تیره نشان دهنده تشکیل نانوذرات نقره می‌باشد (تصویر ۱). در این مطالعه پیک جذبی نانوذرات بعد از گذشت ۹۰ دقیقه از زمان واکنش در طول موج ۴۰۰ nm شناسایی شد (تصویر ۲). این پیک نشان دهنده احیاء یون‌های نقره و تشکیل نانوذرات نقره با استفاده از عصاره جلبک *Sargassum angustifolium* می‌باشد. Singaravelu و همکاران در سال ۲۰۰۷ سنتز نانوذرات طلا با استفاده از عصاره جلبک Sargassum wightii را در طی ۲۴ ساعت انکوباسیون انجام دادند. همچنین در مطالعه‌ای توسط Kumar و همکاران در سال ۲۰۱۲ سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره جلبک Sargassum tenerrimum در طی ۲۰ دقیقه انجام شد که این امر از طریق تغییر رنگ قابل مشاهده است. طبق تصاویر به‌دست آمده از TEM، میانگین اندازه نانوذرات ۴۲/۳۱ nm و با شکل کروی بودند، نانوذرات نقره سنتزشده در مطالعه حاضر دارای پراکندگی مناسب بوده و تقریباً به خوبی در همه جای سطح نمونه توزیع شده‌اند و در تماس مستقیم با همدیگر نیستند (تصویر ۳)، این امر می‌تواند به‌واسطه نقش پروتئین‌ها در بیوسنتز نانوذرات نقره باشد (۲۳)، زیرا یکی از ترکیباتی که در جلبک‌های دریایی در تشکیل و پایداری نانوذرات نقره نقش

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. غلظت کشندگی ($LC_{۱۰-۹۰}$) نانوذرات نقره سنتز شده از جلبک سارگاسوم در ماهی کپور معمولی.

غلظت کشنده mg/l ($LC_{۱۰-۹۰}$)	۲۴ ساعته	۴۸ ساعته	۷۲ ساعته	۹۶ ساعته
$LC_{۱۰}$	۳۴/۴۳ ± ۰/۰۰۴	۱۴/۲۳ ± ۰/۰۱۲	۰/۱۱ ± ۰/۰۰۷	۰/۰۵ ± ۰/۰۱۹
$LC_{۵۰}$	۷۷/۹۱ ± ۰/۰۰۴	۵۰/۵۶± ۰/۰۱۲	۲۹/۰۱ ± ۰/۰۰۷	۹/۷۳ ± ۰/۰۱۹
$LC_{۹۰}$	۱۲۱/۴۰ ± ۰/۰۰۴	۸۶/۸۸ ± ۰/۰۱۲	۵۸/۱۴ ± ۰/۰۰۷	۲۲/۸۱ ± ۰/۰۱۹

جدول ۳. غلظت کشندگی نانوذرات نقره در گونه‌های مختلف ماهیان.

گونه ماهی	اندازه نانوذرات نقره (nm)	طول دوره مواجهه (ساعت)	میزان $LC_{۵۰}$ (mg/L)	منبع
زبرا	۴۴/۵	۴۸	۷/۰۷	(۱۰)
زبرا	۵-۲۰	۲۴	۲۵۰	(۷)
مداکای ژاپنی	۴۹/۶	۹۶	۳۴/۶	(۶)
مداکا	۲۹/۹	۹۶	۰/۸۷	(۳۸)
ماهی قنات سرچرب	۳۵	۹۶	۹	(۱۶)
جنین زبرا	۵-۲۰	۷۲	۵-۱۰۰	(۲)
سوف	۸۱	۴۸	۶۳	(۴)

دارد پروتئین‌ها هستند. مطالعات نشـان داده‌اند که بیومولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، فنول‌ها، فلاونوئیدها و برخی از ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در گیاهان دریایی قادر به احیاء یون‌های فلزی به فرم نانو می‌باشند و همچنین نقش مهمی را در پوشش نانوذرات سنتزشده و پایداری آنها ایفاء می‌نمایند (۳۶). در تعیین بیواندیکاتورها لازم است آنها از بین گونه‌هایی انتخاب شوند که فراوانی زیادی در محیط داشته باشند و کشت و پرورش آنها آسان باشد (۳۳). از طرفی دیگر در حال حاضر با توجه به رهاسازی بیشتر این نانومواد به آب‌های شیرین و آلودگی بیشتر این منابع آبی بیشتر مطالعات در رابطه با اثرات سمی نانوذرات نقره بر روی گونه‌های آب شرین متمرکز شده است (۲۷) بنابراین در این مطالعه تست سمیت نانوذرات نقره سنتزشده از جلبک دریایـی در ماهی کپورمعمولی که از گونه‌های رایج و اصلی پرورشـی و با سـازش‌پذیری بالا در شرایط اسارت می‌باشـد و به‌وفور در اکثر منابع آبی شیرین یافت می‌شود انجام شـد. در آزمایش مقدماتی تلفات در ماهیان ۵ ساعت پس از مواجهه در بالاترین غلظت (۱۰۵ mg/l) شروع شد. در تست سمیت حاد با نانوذرات نقره با اندازه ۲۹/۹ nm در ماهی مداکا توسط WU و Zhou در سـال ۲۰۱۳، در غلظـت ۴/۸ mg/l پس از ۱۲ سـاعت همه ماهیان تلف شـدند و میزان $LC_{۵۰}$ ۹۶ ساعته ۰/۸۷ mg/l محاسبه شد. در مطالعـه ما میزان $LC_{۵۰}$ در ماهی کپور معمولی بعـد از مواجهه با نانوذرات نقره سـنتز شـده از جلبک دریایی در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ سـاعت به‌ترتیـب ۰/۰۰۴ ± ۷۷/۹۱ mg/l، ۰/۰۱۲ ± ۵۰/۵۶، ۰/۰۰۷ ± ۲۹/۰۱ و ۰/۰۱۹ ± ۹/۷۳ تعییـن گردید. در مطالعه‌ای توسـط Bilberg و همکاران در سـال ۲۰۱۲ در ماهی زبرا ۵۰٪ غلظت کشـندگی ۴۸ سـاعته نانوذرات ۸۴ µg/l نقره بوده است که نشان از سمیت بیشتر این نانوذره که با روش شیمیایی سنتز شده در مقایسه با تحقیق ما می‌باشد زیرا در سنتز نانوذرات نقره با روش شـیمیایی از موادی اسـتفاده می‌شود که برای موجودات زنده و محیط زیسـت سمی می‌باشند، علاوه بر این سمیت نانوذرات می‌تواند با توجه به گونه مورد آزمایش متفاوت باشد (۱۷). نتایج به‌دست آمده از $LC_{۵۰}$ در زمان‌های مختلف نشان می‌دهد که مقدار آن در ۲۴ ساعت اولیه آزمایش همواره بیشـتر از $LC_{۵۰}$ در پایان ۹۶ ساعت می‌باشد پس می‌توان گفت در مطالعه ما مدت زمان مواجهه با نانوذرات نقره نیز یکی از فاکتورهای مؤثر بر سمیت در ماهی کپورمعمولی بوده است که نشان می‌دهد وقتی ماهی در معرض غلظت ثابتی از نانوذرات نقره باشد با گذشت زمان، فرصت بیشتری بـرای تاثیرگذاری روی ماهی پیدا می‌کند، زیرا یکی از عوامل تاثیرگذار در مسمومیت آبزیان علاوه بر غلظت سم، مدت زمان مواجهه با سم می‌باشد (۲۹). در مطالعات مختلف سمیت نانوذرات نقره در گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت گزارش شده است (جدول ۳).

Alishahi و همکاران در سـال ۲۰۱۱ میزان $LC_{۵۰}$ نانوذرات نقره در چهار گونه ماهی کپور، برزم، افرا و گوپی را به‌ترتیب µg/ml ۱/۱۲، ۰/۷۷، ۵/۷ و ۷/۳۵ گزارش نمودند و بیان کردند که ماهیان اکواریومی نسـبت به ماهیان وحشی برزم و کپور مقاومت بیشتری در برابر سمیت نانوذرات نقره نشـان دادند. Shahbazzadeh و همکاران در سال ۲۰۰۹، $LC_{۵۰}$ h-۹۶ نانوذرات نقـره را برای بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمـان، ۲/۳ mg/L بدست آوردند. در مطالعه Soltani و همکاران در سال ۲۰۱۱، میزان $LC_{۵۰}$ ۹۶ سـاعته در ماهی قزل‌آالای رنگین‌کمان مواجهه شده با نانوذرات نقره سنتزشده با روش شیمیایی، ۵mg/l گزارش شد. Hedayati و همکاران در سـال ۲۰۱۲ میزان $LC_{۵۰}$ در ماهی کپور معمولی را در مواجهه با دو نوع نانوذره نقره با نـام تجاری Nanosil (کمتـر از ۱۰۰nm) و Nanocid (۱۸ nm) به ترتیب ۷۳/۸ mg/l و ۰/۴۳ گزارش نمودند که یکی از دلایل تفاوت در میزان ۵۰٪ غلظت کشـندگی تفـاوت در اندازه نانوذرات گزارش شد. Johari و همکاران در سال ۲۰۱۳ حد متوسط کشندگی نانوذرات نقره

www.SID.ir

Archive of SID

بـا اندازه ۱۶/۶nm نانومتـر را در جنین، لارو و بچه ماهی جوان قزل‌آلای رنگین‌کمـان به‌ترتیب ۰/۲۵ mg/l، ۰/۷۱ و ۲/۱۶ گزارش کردند. سـمیت نانوذرات نه تنها به شـکل شـیمیایی و اندازه ذرات و روش سنتز شده بلکه بـه فاکتورهای مختلفی از قبیل نوع گونـه، وضعیت فیزیولوژیکی، فعل و انفعالات تغذیه‌ای و روش تجویز بستگی دارد (۱۷). بنابراین لازم است که سمیت نانوذرات به منظور شناخت بهتر اثرات سمی‌شان در محیط‌های آبی بر روی گونه‌های مختلف جداگانه ارزیابی شود. در مطالعه حاضر علاوه بر متفاوت بودن نوع گونه ماهی، روش سنتز نانوذره مورد آزمایش نیز متفاوت است بنابراین قابل انتظار است که نتایج حاصل از سمیت و LC_{50} در مطالعه حاضر با سـایر مطالعات متفاوت باشد. مقایسه نتایج LC_{50} مطالعه حاضر با مطالعات سـایر محققین (۱) و (۱۱) که در ماهی کپور معمولی انجام شـده اسـت نشان می‌دهد که نانوذرات نقره سنتزشده با روش بیولوژیکی نسبت به نانوذرات سنتزشـده با روش شـیمیایی دارای سمیت کمتری می‌باشند. یکی از دلایل اختلاف در سـمیت علاوه بر تفاوت در اندازه ذرات، شـرایط آزمایش و اندازه ماهی، می‌تواند به دلیل پایداری بیشتر نانوذرات به‌واسطه بیومولکول‌هـای موجـود در جلبک دریایـی و در نتیجه رهاسـازی کمتر یون‌های نقره در نانوذرات سنتزشده با روش بیولوژیکی باشد. برخی محققین سـمیت بالاتر نانوذرات نقره نسـبت به یون‌های نقره را علاوه بر خواص فیزیکوشیمیایی ذرات، ناشی از رهاسازی یون‌های نقره از نانوذرات نقره ذکر کرده‌اند (۲۱)، (۳۷). مقایسه میزان مرگ ومیر ماهیان در تیمارهای مواجهه با نانوذرات نقره با گروه شاهد که هیچ گونه تلفاتی در آن مشاهده نشد نشان می‌دهـد که تنها عامل مرگ و میـر ماهیان در تیمارهای مختلف، افزودن نانوذرات نقره به آب بوده اسـت. نتایج LC_{99-1}، ۹۶ ساعته به‌دست آمده در تحقیق حاضر در زمان‌های مختلف نشـان از ارتباط مستقیم بین سمیت و غلظت نانوذرات نقره می‌باشـد (LC_{96-10} h :۰/۰۵/mg و LC_{96-90} h:۲۲/۸۱ mg/l). از نظر علایم رفتاری فعالیت شدید ماهیان و پریدن آنها از آب بلافاصله پس از مواجهه با غلظت‌های بالای نانوذرات نقره احتمالاً نشـان دهنده ایجاد اسـترس شدید و تاثیر سمیت سریع نانوذره نقره سنتزشده در غلظت‌های بالا در مقایسه با غلظت‌های پایین‌تر می‌باشد. بنابراین ماهیان در پاسـخ به ایـن عوامل و فـرار از وضعیت، چنیـن عکس‌العمل‌هایی از نظر رفتاری نشـان می‌دادند. در مطالعه صورت گرفته توسـط Bilberg و همکاران در سـال ۲۰۱۲ بر ماهی زبـرا در مواجهه با نانوذرات نقره علایم رفتاری غیرطبیعی و استرس بلافاصله ۳۰ دقیقه بعد از مواجهه ظاهر گردید که دلیل احتمالی آن تاثیر سریع سمیت نانوذره نقره ذکر شده است به‌طوری که ابتدا ماهیان در کف مخزن بی‌حرکت مانده و میزان تنفس‌شان افزایش پیدا کرد و سـپس با آمدن به سـتون آب، تعادل‌شـان را از دست داده و در کف سقوط می‌کردند. همچنین تعدادی از ماهیان قبل از دست دادن تعادل حرکات پرشی و شنای چرخشی از خود نشان دادند که از نظر علایم رفتاری با مطالعه ما تا حدودی مشابه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از جنـاب آقای مهندس علی فخری کارشـناس ارشـد محترم مرکز مطالعات و پژوهشـهای خلیج فارس دانشـگاه خلیج فارس بوشهر جهت همراهـی در جمع آوری جلبک‌ها و معاونت محترم پژوهشـی دانشـکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز و کلیه عزیزانی که در انجام کار ما را یاری کردند سپاسگزاری می‌نماییم.

References

1. Alishahi, M., Mesbah, M., Ghorbanpoor, M. (2011) Toxicity study of silver nanoparticles in four fish species. Iran J Vet Res. 7: 36-41.
2. Asharani, P.V., Wu, Y.L., Gong, Z., Valiyaveettil, S. (2008) Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. Nanotechnology. 19: 1-8.
3. Balantrapu, K., Goia, D. (2009) Silver nanoparticles for printable electronics and biological applications. J Mater Res. 24: 2828-2836.
4. Bilberg, K., Hovgaard, M.B., Besenbacher, F., Baatrup, E. (2012) In Vivo Toxicity of Silver Nanoparticles and Silver Ions in Zebrafish (Danio rerio). J Toxicol. 1: 1-9.
5. Bilberg, K., Malte, H., Wang, T., Baatrup, E. (2010) Silver nanoparticles and silver nitrate cause respiratory stress in Eurasian perch (Perca fluviatilis). Aquat Toxicol. 96: 159-165.
6. Chae, Y.J., Pham, C.H., Lee, J., Bae, E., Yi, J., Gu, M.B. (2009) Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Aquat Toxicol. 94: 320-327.
7. Choi, J.E., Kim, S., Ahn, J.H., Youn, P., Kang, J. S., Park, K., Yi, J., Ryu, D.Y. (2010) Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. Aquat Toxicol. 100: 151-9.
8. Monfared, A.L., Soltani, S. (2013) Effects of silver nanoparticles administration on the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): histological and biochemical studies. EUR J Exp Biol. 3: 285-289.
9. Griffitt, R.J., Hyndman, K., Denslow, N.D, Barber, D.S. (2009) Comparison of molecular and histological changes in zebrafish gills exposed

www.SID.ir

Archive of SID

to metallic nanoparticles. Toxicol Sci. 107: 404-415.

10. Griffitt, R.J., Luo, J., Gao, J., Bonzongo, J.C., Barber, D.S. (2008) Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms. Environ Toxicol Chem. 27: 1972-1978.
11. Hedayati, A., Shaluei, F., Jahanbakhshi, A. (2012) Comparison of Toxicity Responses by Water Exposure to Silver Nanoparticles and Silver Salt in Common Carp (*Cyprinus carpio*). Global Vet. 8: 179-184.
12. Kahru, A., Dubourguier, H.C. (2010) From ecotoxicology to nanoecotoxicology. Toxicol. 269: 105-119.
13. Jegadeeswaran, P., Shivaraj, R., Venckatesh, R. (2012) Green synthesis of silver nanoparticles from extract of Padina tatrastromatica laef. Dig J Nanomater Biostruct. 7: 991-998.
14. Johari, S.A., Kalbassi, M.R., Soltani, M., Yu, I.J. (2013) Toxicity comparison of colloidal silver nanoparticles in various life stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iran J Fish Sci. 12: 76 -95.
15. Kumar, P., Senthamil Selvi, S., Lakshmi Prabha, A., Prem Kumar, K., Ganeshkumar, R.S., Govindaraju, M. (2012) Synthesis of silver nanoparticles from Sargassum tenerrimum and screening phytochemicals for its antibacterial activity. Nano Biomed Eng. 4: 2-16.
16. Laban, G., Nies, L.F., Turco, R.F., Bickham, J.W., Sepulveda, M.S. (2010) The effects of silver nanoparticles on fathead minnow (Pimephales promelas) embryos. Ecotox. 19: 185-195.
17. Li, H., Zhang, J., Wang, T., Luo, W., Zhou, Q., Jiang, G. (2008) Elemental selenium particles at nano-size (Nano-Se) are more toxic to Medaka (*Oryzias latipes*) as a consequence of hyper-accumulation of selenium: A comparison with sodium selenite. Aquat Toxicol. 89: 251-256.
18. Li, S., Shen, Y., Xie, A., Yu, X., Qiu, L., Zhang, L., Zhang, Q. (2007) Green synthesis of silver nanoparticles using Capsicum annuum L. extract. Green Chem. 9: 852-858.
19. Luoma, S.N., Rainbow, P.S. (2005) Why is metal bioaccumulation so variable? Biodynamics as a unifying concept. Environ Sci Technol. 39: 1921-1931.
20. Mansuya, P., Aruna, P., Sridhar, S., Kumar, J.S., Babu, S. (2010) Antibacterial activity and qualitative phytochemical analysis of selected seaweeds from Gulf of Mannar Region. J Exp Sci. 1: 23-26.
21. Mayer, G.D., Leach, A., Kling, P., Olsson, P.E., Hogstrand, C. (2003) Activation of the rainbow trout metallothionein—a promoter by silver and zinc. J Comp Biochem Physiol Part B Biochem Mol Biol. 134: 181-188.
22. Naddy, R.B., Mcnerney, G.R., Gorsuch, J.W., Bell, R.A., Kramer, J.R., Wu, K.B., Paquin,P.R. (2011) The effect of food on the acute toxicity of silver nitrate to four freshwater test species and acute-to-chronic ratios. Ecotox. 20: 2019-2029.
23. Nithya, R., Ragunathan, R. (2009) Synthesis of silver nanoparticle using Pleurotus sajor caju and its antimicrobial study. Dig J Nanomater Biostruct. 4: 623-629.
24. OECD. (1998) Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 2: Effects on Biotic Systems Test Test Guideline No 212: Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages. OECD, Paris, France.
25. Patakfalvi, R., Dekany, I. (2010) Preparation of silver nano-particles in liquid crystalline systems. Colloid Polym Sci. 280: 461-470.
26. Handy, R.D., Owen, R., Valsami-Jones, E. (2008) The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: current status, knowledge gaps, challenges, and future needs. Ecotoxicol. 17: 315-325.
27. Robert, J., Griffitt, Y., Nancy, J., Brown-Peterson, Y., Daniel, A., Savinz, C., Steve, M., Idrissa, B., Ryan, R.A., Marius, B. (2012) Effect of chronic nanoparticle silver exposure to adult and juvenile sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). Environ Toxicol Chem. 31: 160-167.
28. Shahbazzadeh, D. A., Ahari. H. B., Rahimi. N. M., Dastmalchi. F., Soltani, M. (2009) The effects of Nanosilver on survival percentage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Pakistan J of Nutr. 8: 1178-1180.

www.SID.ir

Archive of SID

29. Sharifpoor, E., Soltani, M., Javadi, M. (2003) Determination LC50 and damages caused by pesticide Endosulfan in Beluga juvenile. Iran J Fish Sci. 12: 69-84.
30. Singaravelu, G., Arockiamary, J.S., Ganesh Kumar, V., Govindaraju, K. (2007) A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, Sargassum wightii Greville. Colloids Surf B Biointerfaces. 57: 97-101.
31. Soltani, M., Esfandiary, M., Sajadi, M.M., Khazraeenia, S., Bahonar, A. R., Ahari, H. (2011) Effect of nanosilver particles on hatchability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) egg and survival of the produced larvae Iran J Fish Sci. 10: 167-176.
32. Song, K.C., Lee, S.M., Park, T.S., Lee, B.S. (2009) Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method. Korean J. Chem. Eng. 26: 153-155.
33. Toolabi, A., Zare, M.R., Rahmani, A., Asadi, A., Sarkhosh, M., Hosseinzadeh, A., Abedinezhad, M. (2013) Compare and determine the potential toxicity of nanoparticles Zno using four common bacteria in sewage sludge. J North Khorasan Uni Medical Sci. 5: 397- 403.
34. Menrad, A., Drobne, D., Jemec, A. (2011). Ecotoxicity of nanosized TiO2. Review of in vivo data. Environ Pollut. 159: 677-684.
35. Tripathi, R.M., Saxena, A., Gupta, N., Kapoor, H., Singh, R.P. (2010) Biological synthesis of silver nanoparticles by using Onion (*Allium Cepa*) extract and their antibacterial activity. Digest J Nanomat Biostruct. 5: 323-330.
36. Vedpriya, A. (2010) Living Systems: eco-friendly nanofactories. Dig J. Nanomater Bios. 5: 9-21.
37. Walker, P.A., Kille, P., Hurley, A., Bury, N.R., Hogstrand, C. (2008) An in vitro method to assess toxicity of waterborne metals to fish. Toxicol. Appl Pharmacol. 230: 67-77.
38. Wu, Y., Zhou, Q. (2013) Silver nanoparticles cause oxidative damage and histological changes in medaka (*Oryzias latipes*) after 14 days of exposure. Environ Toxicol Chem. 32: 165-173.
39. Yeo, M.K., Kang, M. (2008) Effects of nanometer sized silver materials on biological toxicity during zebrafish embryogenesis. Bull K Chem Soc. 29: 1179-1184.

www.SID.ir

Archive of SID

Toxicity study of silver nanoparticles synthesized using seaweed *Sargassum angustifolium* in common carp, *Cyprinus carpio*

Bita, S.[1*], Mesbah, M.[2], Shahryari. A.[3], Ghorbaanpoor Najafabadi, M.[4]

[1]*Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar- Iran*
[2]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz- Iran*
[3]*Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz- Iran*
[4]*Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz- Iran*

(Received 13 February 2016, Accepted 5 April 2016)

Abstract:

BACKGROUND: Application of green chemistry to the synthesis of nanomaterials is of vital importance in medicinal and technological aspects. Recently, synthesis of silver nanoparticles using plants and marine macro algae to adapt this approach to the environment, has become more popular. **OBJECTIVES:** The purpose of this study is biological synthesis of silver nanoparticles using seaweed, *Sargassum angustifolium*, and determining its toxicity in common carp. **METHODS:** First, synthesis of silver nanoparticles using Sargassum algae was conducted and then acute toxicity of these silver nanoparticles was investigated at static renewal condition during 96 hours in common carp according to standard methods (1998) OECD. **RESULTS:** TEM analysis showed that the average size of the bionanoparticles was found to be 32.54 nm and spherical in shape. The toxicity results showed that the LC_{50} at 24, 48, 72 and 96-h after exposure was 79.54 ± 0.007, 52.17 ± 0.006, 30.62 ± 0.008 and 11.34 ± 0.016 mg/l respectively. **CONCLUSIONS:** Analysis related to the characterization of the properties of silver nanoparticles proves bioreduction of silver ions by sargassum seaweed extract. According to the results the mortality rates of common carp showed an increasing trend with increasing concentration and exposure time, which indicates the toxicity of this substance in high concentration for common carp.

Keyword: biosynthesis, common carp, *Sargassum angustifolium* seaweed, silver nanoparticles, toxicity

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. Change of color from pale yellow to dark brown by the addition of silver nitrate.

Figure 2. UV-Vis absorption spectrum of silver nanoparticles synthesized by treating 1mM AgNO3 solution with *Sargassum angustifolium* extract.

Figure 3. TEM images of AgNPs synthesized by *Sargassum angustifolium*.

Figure 4. Acute toxicity testing statistical endpoints of AgNP.

Table 1. Mortality rate in common carp exposed to different concentrations of silver nanoparticles at different times.

Table 2. Lethal Concentrations (LC_{10-99}) of synthesis silver nanoparticles (mean ± Standard Error) depending on time (24-96h) for common carp.

Table 3. Lethal Concentrations of silver nanoparticles in different fish species.

***Corresponding author's email: serajbita@yahoo.com, Tel: 054-31272197, Fax: 054-35324264**

www.SID.ir