مجله سلامت و محیط، فصلنامه‌ی علمی پژوهشی
انجمن علمی بهداشت محیط ایران
دوره چهارم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۰، صفحات ۱۷۱ تا ۱۸۰

بررسی سمیت نانوذرات اکسید روی و اکسید تیتانیوم با استفاده از آزمون زیستی توسط باکتری های اشرشیاکلی ATCC 35218 و استافیلوکوک اورئوس ATCC 25923

کاظم ندافی[۱]، محمدرضا زارع[۲]، مسعود یونسیان[۳]، محمود علی محمدی[۴]، نوشین راستکاری[۵]، سیدنجات موسوی[۶]
نویسنده مسئول: تهران، میدان انقلاب، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه مهندسی بهداشت محیط *zaremohammad1363@yahoo.com*

دریافت: ۸۹/۱۲/۰۳ پذیرش: ۹۰/۰۲/۳۱

چکیده

زمینه و هدف: *در این تحقیق سمیت نانوذرات اکسید روی (ZnO) و اکسید تیتانیوم (TiO_2) به عنوان دو نوع از پرکاربردترین نانوذرات مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج این مطالعه می تواند به وضع استانداردها و قوانین زیست محیطی نانوذرات کمک کند.*

روش بررسی: *غلظت های مختلف از دو نانوذره ZnO و TiO_2 به محیط کشت های نوترینت آگار اضافه شد. سپس باکتری های اشرشیا کلی و استافیلوکوک اورئوس با تعداد مشخص به محیط کشت اضافه شدند و میزان بازدارندگی رشد در مقایسه با نمونه شاهد تعیین شد. اطلاعات حاصل به کمک نرم افزار SPSS ver 16.0 و آزمون استاندارد پروبیت، آنالیز شده و غلظت موثر ۵۰ درصد(EC_{50}) و غلظت بدون اثر بازدارنده (NOEC) در ارتباط با دو نوع نانوذره تعیین گردید.*

یافته ها: *طبق آزمایشات، EC_{50} ۲۴ ساعته نانو ZnO ، با استفاده از ا. کلای و ا. اورئوس به ترتیب ۵/۴۷ mg/L و ۲/۳۸ mg/L به دست آمد. EC_{50} ۲۴ ساعته نانوذرات TiO_2 با استفاده از ا. کلای و ا. اورئوس نیز به ترتیب ۵۳۶۶ mg/L و ۳۴۷۱ mg/L محاسبه شد. همچنین برای نانوذرات ZnO غلظت بدون اثر بازدارنده (NOEC) با استفاده از ا. کلای و ا. اورئوس به ترتیب ۱/۱۵ و ۳/۲۸ mg/L و برای نانوذرات اکسید تیتانیوم غلظت بدون اثر بازدارنده با استفاده از ا. کلای و ا. اورئوس به ترتیب ۱۹۳۷ و ۱۱۸۴ محاسبه شد.*

نتیجه گیری: *این مطالعه نشان داد که سمیت حاد نانوذرات اکسید روی به مراتب بیشتر از سمیت حاد نانوذرات اکسید تیتانیوم است. مقایسه نتایج این مطالعه با معیارهای ارایه شده توسط EPA نیز نشان می دهد که از نظر سمیت حاد، نانوذرات اکسید روی در رده مواد با سمیت متوسط و نانوذرات اکسید تیتانیوم در رده موادی که عملا غیر سمی هستند قرار می گیرد. بنابراین پیشنهاد حدود مجاز مواجهه و وضع استانداردهای دفع محیطی نانوذرات اکسیدروی از نظر سمیت حاد در مقایسه با نانوذرات اکسید تیتانیوم نیازمند مراقبت بیشتری است.*

واژگان کلیدی: نانوذرات، اکسیدروی، اکسیدتیتانیوم، سمیت، آزمون زیستی، اشرشیا کلی، استافیلوکوک اورئوس

۱- دکترای بهداشت محیط، دانشیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳- دکترای اپیدمیولوژی، دانشیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴- دکترای بهداشت محیط، استادیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۵- دکترای شیمی دارویی، استادیار مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۶- کارشناس بهداشت محیط، آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-22]

مقدمه

اکسیدهای فلزی نانوذرات در مقیاس وسیعی هم در صنعت و هم در موارد خانگی کاربرد دارند (۱). استفاده رو به رشد از نانوذرات مصنوعی در جوامع انسانی بی شک منجر به آزادسازی چنین موادی به انواع محیط ها و اکوسیستم ها خواهد شد (۲و۳). با این وجود تحقیقات کمی در مورد رفتار محیطی، میزان آزادسازی در محیط های آبی و خطرات بالقوه ناشی از نانوذرات صورت گرفته است(۴و۵). به طوری که که تاکنون قواعد و علوم شیمیایی و دارویی رایج نه تنها نتوانسته اند خطرات تحمیل شده به وسیله نانوذرات را توضیح دهند، بلکه یک نیاز اضطراری و فوری را برای ارزیابی اثرات بیولوژیکی آنها اعلام کرده اند(۶). در بین نانوذرات، اکسید روی (ZnO) و اکسیدتیتانیوم (TiO_2) جزو نانوذرات مهم هستند که در بسیاری از کشورها در مقیاس صنعتی در حال استفاده می باشند (۵ و۷). این مواد در صنایع لاستیک سازی، تصفیه فاضلاب و همچنین به عنوان قارچ کش کاربرد دارند(۸و۹). از کاربردهای دیگر این مواد می توان به استفاده از آنها در محصولات آرایشی و بهداشتی مثل کرم های ضد آفتاب و خمیردندان اشاره کرد(۶و۱۰). مطالعاتی که در خصوص کاربردهای آرایشی و بهداشتی نانوذرات انجام شده است نشان می دهد که نانوذرات TiO_2 (با قطر ۲۰-۱۰ نانومتر) بر اثر مواجهه با اشعه UVA خواص سایتوتوکسیسیتی شدیدی از خود نشان می دهند (۱۱و۱۲)، همچنین نانو ZnO در تشکیل رادیکال های آزاد در سلول های پوست شرکت می کند و بدین طریق به DNA و پروتیین سلول ها آسیب می رساند و باعث سرطان می شود(۱۳)، به علاوه این مواد با عبور از سد مهم خونی ـ مغزی و امثال آن، ممکن است باعث آسیب های بالقوه حاد و جدی تر نیز شوند(۱۴و۱۵). از طرف دیگر نانوذرات ZnO پتانسیل بالایی در وارد شدن به محیط های آبی دارند به طوری که محققان ایتالیایی اثبات کرده اند که ۲۵٪ از کرم های ضد آفتابی که برای محافظت از پوست استفاده می شوند از طریق استحمام و شنا شسته می شوند، این مقدار باعث می شود ۲۵۰ تن از این مواد وارد محیط های آبی شوند(۱۶). بنابراین با توجه به کاربردهای فراوان نانوذرات و ویژگی های منحصر به فرد این مواد، بررسی اثرات احتمالی این مواد ضروری است. در مطالعه ای که توسط ونگ و همکاران (Wang et al.) صورت گرفت به مقایسه سمیت نانوذرات TiO_2 ،ZnO و Al_2O_3 در حالت نانوذره ای و غیرنانوذره ای پرداخته شد(۴). در این مطالعه که با استفاده از نماتود به عنوان یک موجود پرسلولی صورت گرفت، تفاوت زیادی درمورد سمیت حالت نانوذره ای و غیرنانوذره ای ZnO مشاهده نشد اما سمیت حالت نانوذره ای TiO_2 و Al_2O_3 بیشتر از حالت غیر نانوذره ای بود. در این مطالعه اثر نانوذرات بر موجودات تک سلولی مورد مطالعه قرار نگرفت.

در مطالعه دیگری که توسط هینلان و همکاران (Heinlaan et al.) با استفاده از دافنیا مگنا (یک سخت پوست پرسلولی) صورت گرفت، مشخص شد نانوذرات ZnO هم درحالت نانوذره ای و هم غیرنانوذره ای دارای سمیت بیشتری نسبت به TiO_2 می باشند (۵). در این مطالعه اثر این مواد بر باکتری ویبریو فیشری در یک محیط کشت مایع نیز مورد مطالعه قرار گرفت و همین نتایج به دست آمد اما اثر نانوذرات بر باکتری ها بر روی یک محیط ثابت (جامد) سنجیده نشد.

در تعیین تاثیرات بالقوه عوامل شیمیایی و اثرات ترکیبات سمی، آزمون های زیستی (Bioassay) می توان موجودات مختلفی را استفاده کرد. در تعیین سمیت نانوذرات ZnO و TiO_2 نیز از موجوداتی همچون آلگ ها، نماتودها و سخت پوستان استفاده شده است(۶-۳) اما از آنجایی که در تست های تعیین سمیت موجودات حساس تر می توانند اطمینان بالاتری را فراهم کنند درنتیجه بررسی سمیت با استفاده از باکتری ها می تواند به تعیین سمیت نانوذرات کمک کند. از طرف دیگر چون هدف نهایی تعیین سمیت تعمیم داده ها به انسان است، پس بررسی سمیت با استفاده از موجودات مختلف ضریب اطمینان آزمایشات گذشته را ارتقا خواهد داد. در بین باکتری ها، گونه های اشرشیاکلی به عنوان

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-22]

باکتری گرم منفی و استافیلوکوک اورئوس به عنوان باکتری گرم مثبت، به دلیل وفور در طبیعت و کشت و پرورش آسان، گونه های مناسبی است.

این مطالعه به منظور بررسی سمیت نانوذرات، صورت گرفت. بدین منظور نانوذرات اکسید روی و اکسید تیتانیوم به عنوان دو نوع از پرکاربردترین نانوذرات در تماس با باکتری گرم منفی و گرم مثبت قرار گرفتند و EC_{50} آنها (غلظتی از مواد بازدارنده که باعث مرگ ۵۰٪ جمعیت مورد آزمایش می شود) تعیین شد. اگر چه تاکنون مطالعاتی درمورد سمیت نانوذرات صورت گرفته است اما تاکنون مطالعه ای که سمیت این مواد را در یک محیط کشت جامد با استفاده از ا. کلای وا. اورئوس نشان دهد، انجام نگرفته است. نتایج این تحقیق می تواند علاوه بر شناخت سمیت نانوذرات به شناخت بهتر آنها به عنوان مواد ضد باکتریای نیز کمک کند.

مواد و روش ها

نانوذرات

نانوذرات ZnO و TiO_2 از آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تهیه شدند، قطر این ذرات ۵۰ تا ۷۰ نانومتر بود. محلول استوک ۱۰گرم در لیتر از این نانوذرات به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه التراسونیک (BandelinSonorex RK 31 H) با دمای ۶۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت و سپس در تهیه غلظت های مورد نظر استفاده شد.

آماده سازی محیط کشت

نوترینت آگار (MERCK 1.05450) به روش معمول با اتوکلاو کردن آماده شد. ترکیب این محیط کشت بر حسب g/L بدین صورت است: Pepton from meat 5.0; Meat extract 3.0; Agar-agar 12.0.. یک محلول استوک ۱۰۰ و ۱۰۰۰ mg/L از محیط کشت و نانوذرات نیز آماده شد. زمانی که دمای محلول های خالص نوترینت آگار در حین سرد شدن به ۶۰ درجه سانتی گراد رسید ماده بازدارنده رشد (محلول های نانوذرات) اضافه شد. پس از تهیه غلظت های ۱ تا ۱۰ (۱۰ غلظت) از نانوذرات ZnO و غلظت های ۲۰۰ تا ۱۰۰۰۰ (۷ غلظت) از نانوذرات TiO_2 در آگار، این محیط ها به درون پتری دیش ریخته شدند و به صورت چرخشی یکدست شدند (۱۷).

تست سمیت و کشت باکتری

باکتری های اشرشیا کلی ATCC 35218 و استافیلوکوک اورئوس ATCC 25923 که از قبل بر روی نوترینت آگار نگه داری شده بودند، جهت رشد به مدت ۲۴ ساعت در نوترینت براث (Art. 10234) کشت داده شدند. ترکیب محیط کشت نوترینت براث بر حسب g/L عبارت بود از Infusion from meat 5.0; Pepton from meat 10.0; di-Sodium hydrogen phosphate 2.0; Sodium chloride 3.0 قبل از استفاده از کشت های نوترینت براث حاوی باکتری، هر محیط باکتریایی به نسبت ۱:۱۰۰ با نوترینت براث استریل و تازه رقیق شد. باکتری ها با الگوی شعاعی و به صورت مخطلط بر روی پلیت نوترینت آگار کشت داده شدند. این نوترینت آگار حاوی غلظت های مورد نظر از نانوذرات بود. پس از انکوبه کردن در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کلنی ها شمارش شدند. حداقل تکرار لازم برای هر غلظت از نانوذره ۳ بار است و بنابراین از هر غلظت نانوذره سه پتری دیش تهیه شد. همچنین به عنوان نمونه شاهد نیز کشت بر روی پتری دیش های حاوی محیط آگار خالص انجام شد(۱۸).

آنالیز نتایج

آزمایش مربوط به هر غلظت سه بار تکرار شد ومیانگین هر سه تکرار، تعیین گردید. جهت تعیین ارتباط بین میزان مرگ و میر و غلظت نانوذرات، ضریب همبستگی پیرسن با استفاده از نرم افزار SPSS Ver 16.0 تعیین شد. میانگین هر سه بار آزمایش توسط آنالیز پروبیت در نرم افزار SPSS Ver 16.0 و با استفاده از آزمون پیروبیت آنالیز شد، نتایج حاصل از آنالیز پروبیت جهت رسم نمودارها در برنامه Microsoft Excel 2007 استفاده شد و توسط آن EC_{50} محاسبه شد. همچنین غلظت بدون اثر بازدارنده No Observed Effect Concentration (NOEC) و

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-22]

غلظتی که در آن ۱۰۰ ٪ مرگ و میر رخ می دهد(100% mortality rate) به ترتیب از طریق محاسبه غلظتی که مرگ و میر در آن ۱۰٪ و ۹۹٪ بود، توسط آنالیز پروبیت در نرم افزار SPSS Ver 16.0 تعیین شد.

یافته ها

نانوذرات ZnO

طبق آزمایشات، EC_{50} ۲۴ ساعته نانو ZnO با استفاده از اشرشیاکلی و استافیلوکوک اورئوس به ترتیب ۵/۴۷ و ۲/۸۳ mg/L به دست آمد (جدول ۱). غلظت بدون اثر مخرب (NOEC)این نانوذره درموردا.کلای وا.اورئوس به ترتیب ۱/۱۵ و ۳/۲۸ mg/L به دست آمد (جدول ۲). در غلظت های بیش از ۵/۵۲ درمورد ا. کلای و ۹/۴۴ mg/L درمورد ا. اورئوس، ۱۰۰٪ مرگ باکتری ها مشاهده شد.

نانوذرات TiO_2

همان طور که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است، EC_{50} نانوذرات اکسیدتیتانیوم با استفاده از ا. کلای و ا. اورئوس به ترتیب ۵۳۶۶ و ۳۴۷۱ mg/L بدست آمد. ۱۰۰٪ مرگ و میر ا.کلای و ا. اورئوس به ترتیب در غلظت های بیش از ۱۱۵۹۰ و ۷۶۲۳ mg/L تعیین شد. میزان ۱۹۳۷ mg/L، NOEC برای باکتری ا. کلای و ۱۱۸۴ mg/L برای ا. اورئوس محاسبه شد (جدول ۲).

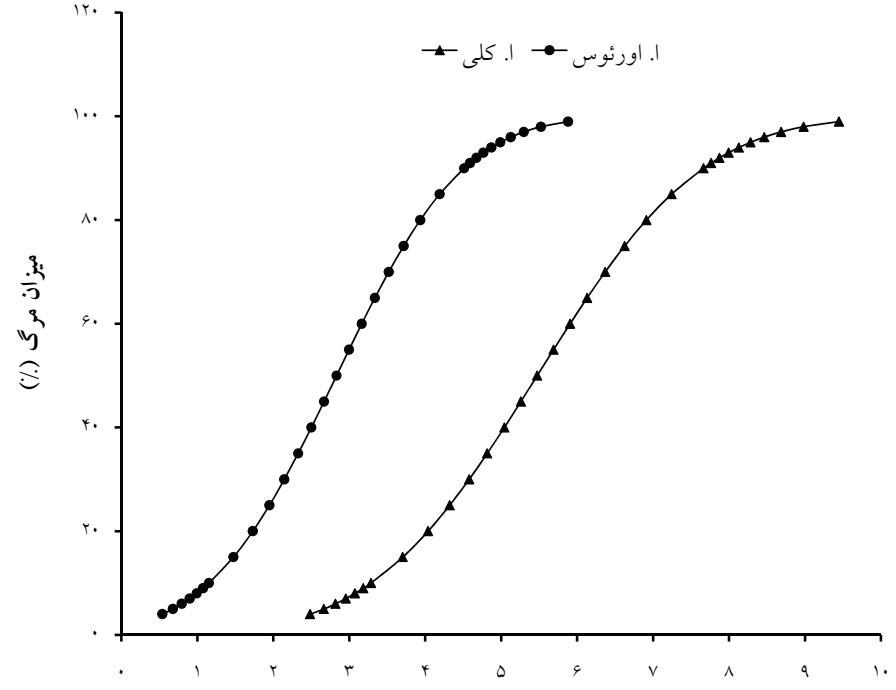
جدول ۱: مقادیر EC_{50} نانوذرات پس از کشت ۲۴ ساعته باکتری ها با حدود اطمینان ۹۵٪

نانوذرات	نانوذرات اکسید روی			نانوذرات اکسید تیتانیوم		
	EC_{50}	حدود اطمینان ۹۵٪ برای EC_{50}		EC_{50}	حدود اطمینان ۹۵٪ برای EC_{50}	
باکتری	(mg/L)	حد پایین	حد بالا	(mg/L)	حد پایین	حد بالا
اشرشیا کلی	۵/۴۷	۴/۷۳	۷/۱۹	۵۳۶۶	۴۶۶۰	۶۲۶۵
استافیلوکوک اورئوس	۲/۸۳	۲/۶۶	۳/۰۰	۳۴۷۱	۲۸۸۱	۴۲۸۸

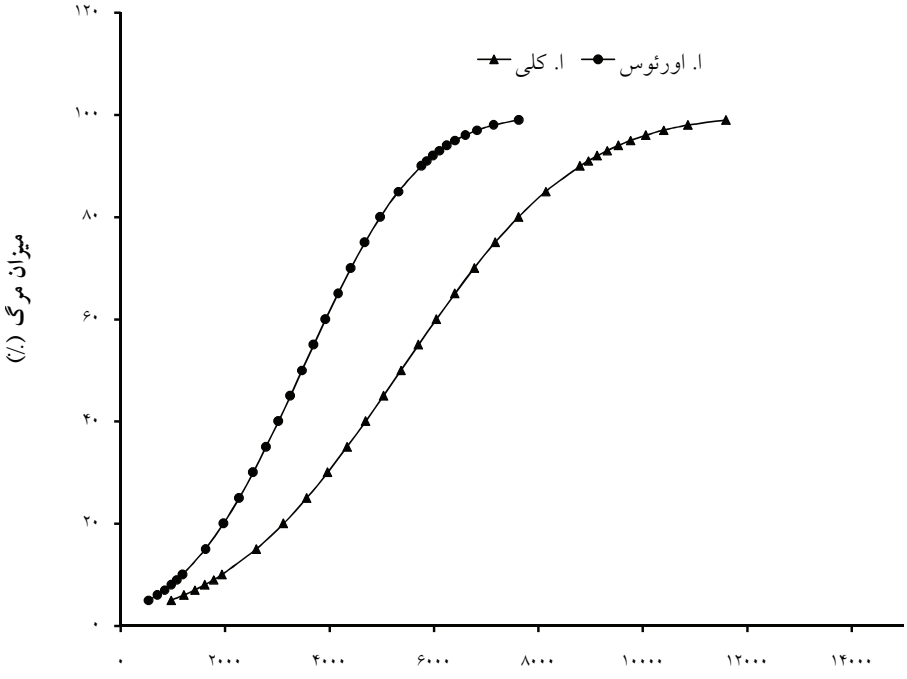
جدول ۳: مقادیر NOEC و ۱۰۰٪ مرگ و میر باکتری ها دراثر مواجهه با نانوذرات (mg/L)

نانوذرات	نانوذرات اکسید روی		نانوذرات اکسید تیتانیوم	
باکتری	۱۰۰٪ مرگ (mg/L)	غلظت بدون اثر سوء NOEC (mg/L)	۱۰۰٪ مرگ (mg/L)	غلظت بدون اثر سوء NOEC (mg/L)
اشرشیا کلی	>۵/۵۲	<۱/۱۵	>۱۱۵۹۰	<۱۹۳۷
استافیلوکوک اورئوس	>۹/۴۴	<۳/۲۸	>۷۶۲۳	<۱۱۸۴

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-22]



شکل ۱: دوز ـ پاسخ باکتری ها در غلظت های مختلف نانوذرات اکسید روی



شکل ۲: دوز ـ پاسخ باکتری ها در غلظت های مختلف نانوذرات اکسیدتیتانیوم

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-22]

بحث

نمودارهای حاصل از تست تعیین سمیت نشان داد که بین دوز نانوذرات و سمیت آنها ارتباط مستقیم وجود دارد (شکل های ۱و۲). مقایسه EC_{50} دونانوذره (جدول ۱)، تفاوت بسیار زیاد این اعداد را نشان می دهد. این تفاوت نشان می دهد، نانوذرات مختلف می توانند سمیت های متفاوت داشته باشند، به علاوه تفاوت EC_{50} یک نانوذره در دو باکتری مختلف نشان می دهد که شدت اثر سمیت یا اثر ضدباکتریایی نانوذرات، به نوع باکتری نیز بستگی دارد. در این زمینه این مطالعه نشان داد که باکتری ا. اورئوس گرم مثبت، نسبت به ا. کلای گرم منفی حساس تر است. این نتایج از نتایج ساوای و همکاران (۱۹) که اثر پودر سرامیک را با باکتری ها سنجیدند، پیروی می کند. به طوری که طی تحقیق آنها نیز باکتری های گرم مثبت در برابر پودر سرامیک حساس تر بودند. اما در مطالعاتی که درمورد سمیت TiO_2 صورت گرفت، برخلاف مطالعه حاضر، باکتری های گرم مثبت، کمتر آسیب پذیر شناخته شدند که دلیل عمده آن توانایی تشکیل اسپور و ساختار دیواره سلولی این باکتری هاست(۲۰). این مساله که در بعضی مطالعات باکتری های گرم مثبت به عنوان گونه های حساس تر شناخته می شوند و در بعضی دیگر، خلاف این موضوع اثبات می شود، علاوه بر تفاوت در ویژگی های فردی و سویه ای باکتری ها، می تواند به خاطر اثر نور نیز باشد. به طوری که درمورد TiO_2 اثبات شده، امواج نوری باعث تولید Reactive Oxygen Species (ROS) فتوکاتالیتیک می شوند (۲۱) و از این طریق سمیت آنها افزایش می یابد.

بنابراین مکانیسم پاسخ های متفاوت به دوزهای مشابه نانوذرات در باکتری های گرم مثبت و منفی علاوه بر تفاوت فیزیولوژیکی، متابولیسم های درون باکتریای و نفوذپذیری انتخابی غشاها و دیواره های آنها، به خاطر تفاوت در شرایط فیزیکی(وجود و یا عدم وجود نور) نیز می تواند باشد.

درمورد نانوذرات ZnO EC_{50} محاسبه شده در این تحقیق بیش از نتایج مارگیت هینلان و همکاران است(۵) به طوری که نتایج حاصل از تحقیق آنها EC_{50} با باکتری ویبریو فیشری را mg/L ۱/۹ نشان داد. در طی تحقیق دیگری که توسط آدامز و همکاران (۲۲) صورت گرفت، غلظت بازدارنده رشد در ۴۸٪ گونه های ا.کلای در غلظت ppm ۱۰۰۰ از نانوذرات ZnO به دست آمد. این تفاوت های فاحش در نتایج این مطالعات و تحقیق حاضر، علاوه بر اختلافات ژنتیکی و گونه ای باکتری های استفاده شده توسط هر دو گروه، به خاطر تفاوت های نانوذرات و تفاوت در روش آزمایشات نیز می تواند باشد(۲۲). در مطالعه ای که توسط لاورا و همکاران صورت گرفت علاوه بر این که قطر نانوذرات بسیار بیشتر از قطر نانوذرات استفاده شده در این مطالعه بود، غلظت های مورد آزمایش و تماس باکتری ها با آنها نیز در محیط مایع (Minimal Davis medium (MD، همراه با اختلاط بود. در آزمایشاتی که در محیط های مایع و محلول بر روی باکتری ها صورت می گیرد، نیاز است جهت جلوگیری از رسوب نانوذرات محلول ها به هم آمیخته شوند (اختلاط داده شوند)(۲۳)، اما اختلاط این محلول ها باعث به هم چسبیدن و تجمع نانوذرات به دور هم می شود که این امر باعث افزایش قطر نانوذرات می شود، افزایش قطر به نوبه خود باعث نفوذ کمتر این مواد به ارگان ها و سلول ها می شود، درنتیجه سمیت واقعی این مواد کمتر از مقدار واقعی ثبت خواهد شد. این موضوع می تواند دلیل اصلی محدوده گسترده غلظت های بازدارنده رشد در آزمایشات لاورا و همکاران نسبت به تحقیق حاضر باشد. طی مطالعه این افراد که در آن اثر بازدارندگی رشد نانو ZnO توسط ا. کلای تعیین شد، غلظت های مورد آزمایش از ppm ۱۰ با ۱۴٪ بازدارندگی تا ppm ۱۰۰۰ با حدود ۵۰٪ بازدارندگی رشد متفاوت بود. این در حالی است که در مطالعه حاضر، آزمون زیستی ZnO توسط ا.کلای نشان داد، محدوده غلظت برای ۵۰٪ مرگ و NOEC بین ppm ۵/۴۷ تا ppm ۱/۱۵ بود. در روش های مختلف تعیین سمیت یک ماده واحد، تستی که سمیت بیشتری را نشان دهد، ضریب اطمینان بالاتری دارد، (به طوری که تکیه بر نتایج آن می تواند اطمینان بالاتری جهت پیش بینی اثرات زیان بار

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-22]

آن ایجـاد کند)، بنابراین پیشـنهاد می شـود درمورد نانوذرات (که در محیط های آبی قابلیت چسـبندگی و ته نشـینی دارند) همزمـان از روش هایی کـه در آنها نانـوذرات در یک محیط غیرمایع، ثابت شده باشند(همچون روش به کار رفته در مطالعه حاضر) نیز استفاده شـود تا اثرات سمی بالقوه نانوذرات بهتر آشـکار گردد. مقایسه یافته های حاصل از اثر ZnO بر باکتری گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس با یافته های مطالعه حاضر نیز، موارد فوق را تصدیق می کند(۲۲).

مقایسـه نتایج این مطالعه با معیارهای ارایه شـده توسط EPA نشان می دهد که از نظر سمیت حاد، نانوذرات اکسید روی در رده مواد با سـمیت متوسـط و نانوذرات اکسید تیتانیوم در رده موادی که عملا غیر سـمی هستند قرار می گیرد(۲۴). بنابراین از نظر سـمیت حاد، به کار گیری و وضع اسـتانداردهای دفع محیطی نانوذرات اکسـید روی در مقایسه با نانو ذرات اکسید تیتانیوم نیازمند مراقبت بیشتری است، با این حال سمیت مزمن این مواد را نباید از نظر دور داشت.

نتیجه گیری

این مطالعه نشـان داد که سمیت حاد نانوذرات اکسید روی به مراتب بیشـتر از سمیت حاد نانوذرات اکسید تیتانیوم است. بنابراین اکسـیدهای فلزی نانوذرات می توانند قدرت سمیت و باکتری کشـی متفاوتی داشته باشـند که نشان می دهد سمیت نانوذرات علاوه بر ساختار نانویی و نسبت بالای سطح به جرم به ماهیت عنصر تشکیل دهنده آنها نیز مربوط است. با توجه به نتایج این مطالعه می توان گفت از نظر سمیت حاد، به کارگیری و وضع اسـتانداردهای مواجهه و دفع محیطی نانوذرات اکسید روی در مقایسـه با نانو ذرات اکسـید تیتانیوم نیازمند مراقبت بیشـتری اسـت. به علاوه با مقایسـه نتایج مطالعـه حاضر با مطالعات قبلی در ارتباط با سـمیت نانوذرات که در محیط های مایع انجام شـده بود این نتیجه گرفته شـد که در تعیین اثرات سـمی بالقوه نانوذرات در محیط های مایع بهتر است هم زمان از روش های تعیین سـمیت نانـوذرات در محیط غیرمایع نیز اسـتفاده شـود تا عوامل مداخلـه کننده در ایـن روش ها (اثر چسبندگی و تجمع پذیری) آشکار گردد و دید بهتری نسبت به پتانسیل سمیت نانوذرات کسب گردد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-22]

منابع

1. Chow JC. Introduction to the A&WMA critical review: Nanoparticles and environment. Journal of the Air & Waste Management Association. 2005;55:706-707.
2. Nowack B, Bucheli TD. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. Environmental Pollution. 2007;150(1):5-22.
3. Wang J, Zhang X, Chen Y, Sommerfeld M, Hu Q. Toxicity assessment of manufactured nanomaterials using the unicellular green alga Chlamydomonas reinhardtii. Chemosphere. 2008;73(7):1121-28.
4. Wang H, Wick RL, Xing B. Toxicity of nanoparticulate and bulk ZnO, Al2O3 and TiO2 to the nematode Caenorhabditis elegans. Environmental Pollution. 2009;157(4):1171-77.
5. Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, Dubourguier HC, Kahru A. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO2 to bacteria Vibrio fischeri and crustaceans Daphnia magna and Thamnocephalus platyurus. Chemosphere. 2008;71(7):1308-16.
6. Kahru A, Dubourguier HC, Blinova I, Ivask A, Kasemets K. Biotests and biosensors for ecotoxicology of metal oxide nanoparticles: A minireview. Sensors. 2008;8(8):5153-70.
7. Jones CF, Grainger DW. In vitro assessments of nanomaterial toxicity. Advanced Drug Delivery Reviews. 2009;61(6):438-56.
8. Reddy KM, Feris K, Bell J, Wingett DG, Hanley C, Punnoose A. Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. Applied Physics Letters. 2007;90(21): 213901–903.
9. Wang X, Lu J, Xu M, Xing B. Sorption of Pyrene by Regular and nanoscaled metal oxide particles: Influence of adsorbed organic matter. Environmental Science & Technology. 2008;42(19):7267-72.
10. Hemmati Borji S, Nasseri S.1, Nabizadeh R.1, Mahvi A.H.1, Javadi A.H. Photocatalytic degradation of phenol in aqueous solutions by Fe(III)-doped TiO2/UV process. Iranian Journal of Health and Environment. 2011;3(4):369-80.
11. Serpone N, Dondi D, Albini A. Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products. Inorganica Chimica Acta. 2007;360(3):794-802.
12. Reeves JF, Davies SJ, Dodd NJ, Jha AN. Hydroxyl radicals (OH) are associated with titanium dioxide (TiO2) nanoparticle-induced cytotoxicity and oxidative DNA damage in fish cells. 2008;640(1-2):113-22.
13. Gurr JR, Wang ASS, Chen CH, Jan KY. Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells. Toxicology. 2005;213(1-2):66-73.
14. Bystrzejewska-Piotrowska G, Golimowski J, Urban PL. Nanoparticles: Their potential toxicity, waste and environmental management. Waste Management. 2009;29(9):2587-95.
15. Barbu E, Moln RV, Tsibouklis J, Grecki DC. The potential for nanoparticle-based drug delivery to the brain: overcoming the blood-brain barrier. Expert Opinion on Drug Delivery. 2009;6(6):553-65.
16. Lockman PR, Oyewumi MO, Koziara JM, Roder KE, Mumper RJ, Allen DD. Brain uptake of thiamine-coated nanoparticles. Journal of Controlled Release. 2003;93(3):271-82.
17. Wong S, Leung P, Djurisic A, Leung K. Toxicities of nano zinc oxide to five marine organisms: influences of aggregate size and ion solubility. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2009;396(2):609-18.
18. Koduru S, Grierson DS, Afolayan AJ. Antimicrobial activity of Solanum aculeastrum. Fitoterapia. 2003;74(3):298-301.
19. Lewu FB, Grierson DS, Afolayan A. Extracts from pelargonium sidoides inhibit the growth of bacteria and fungi. 2006;44(4):279-82.
20. Sawai J, Igarashi H, Hashimoto A, Kokugan T, Shimizu M. Effect of ceramic powders on spores of Bacillussubtilis. Journal of Chemistry English-Japan. 1995;(28):288–93.
21. Rincon AG, Pulgarin C. Bactericidal action of illuminated TiO2 on pure Escherichia coli and natural bacterial consortia: post-irradiation events in the dark and assessment of the effective disinfection time. Apply Catal B: Environt. 2004;(49):99–112.
22. Maness PC, Smolinski S, Blake DM, Huang Z, Wolfrum EJ, Jacoby WA. Bactericidal activity of photocatalytic TiO2 reaction: to ward an understanding

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-22]

of its killing mechanism. Applied Environmental Microbiology. 1999;(65):4094-98.
23. Adams LK, Lyon DY, Alvarez PJJ. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO2, SiO2, and ZnO water suspensions. Water Res. 2006;40(19):3527-32.
24. Sovova T, Koci V, Kochankova L. Ecotoxicity of nano and bulk forms of metal oxides. Nanocon. 2009;10:20-22.
25. U.S. Environmental protection agency [Home page on internet]. Chicago: The association; c1996-2010 [Update 18 may 2010; cited Jun 2010] available from: http://www.epa.gov/oppefed1/ecorisk_ders/toera_analysis_eco.htm.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-22]

Bioassay for Toxicity Assessment of Zinc Oxide and Titanium Oxide to Escherichia Coli ATCC 35218 and Staphylococcus Aureus ATCC 25923 Bacteria

Naddafi K., *Zare M.R., Younesian M., Rastkari N., Alimohammadi M., Mousavi N.
Department of Environmental Health, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received; 23 January 2011 Accepted; 21 May 2011

ABSTRACT

Background and Objectives: This study was conducted to investigate the toxicity of Titanium Oxide (TiO_2) and Zinc Oxide (ZnO) nanoparticles as two of most widely used nanoparticles. The result of this study can help to designing environmental standard and legislations for nanoparticles.

Materials and Methods: Different concentrations of nano ZnO and TiO_2 nanoparticles were added to nutrient Agar culture media. Then, definite numbers of Escherichia coli and Staphylococcus aureus bacteria were added to culture media and inhibition of these bacteria growth was measured in comparison to controls. Obtained data were analyzed to determine nanoparticles' EC_{50} and NOEC (No Observed Effect Concentration) using SPSS ver.16 and Probit standard test.

Results: 24-hours EC_{50} of nano ZnO using E. coli and S. aureus determined to be 5.47 mg/L and 2.38 mg/L respectively. In addition, 24-hours EC_{50} of nano TiO_2 using E. coli and S. aureus determined to be 5366 mg/L and 3471 mg/L respectively. In the case of ZnO nanoparticles, no observed effect concentration determined to be 1.15 and 3.28 mg/L for E. coli and S. aureus respectively and in the case of TiO_2 nanoparticles no observed effect level determined to be 1937 and 1184 mg/L for E. coli and S. aureus respectively.

Conclusion: This study showed that acute toxicity of nano ZnO is by far more than that of nano TiO_2. Regarding the EPA acute toxicity criteria, nano ZnO is categorized as moderately toxic and nano TiO_2 is categorized as practically non toxic. Hence, regarding the acute toxicity, in recommending exposure criteria and environmental disposal standards, compared to nano TiO_2, nano ZnO requires more attention.

Key words: Nanoparticle, Zinc Oxide, Titanium Oxide, Toxicity, Bioassay, Escherichia coli, Staphylococcus aureus

***Corresponding Author:** *zaremohammad1363@yahoo.com*
***Tel:** *+98 21 88954914* ***Fax:** *+98 21 88950188*

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-22]