مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
تابستان ۱۳۹۲؛۵(۲):۳۹۷-۴۰۳

Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
Summer2013;5(2) :397-403

مقاله پژوهشی

مقایسه و تعیین سمیت احتمالی نانوذرات ZnO با استفاده از چهار نوع از باکتری های رایج در لجن فاضلاب

علی طولابی[۱]، محمدرضا زارع[۲]، آیت رحمانی[۳]، مهدی زارع*[۴]، انور اسدی[۵]، مریم سرخوش[۵]، ادریس حسین زاده[۶]، معصومه عابدی‌نژاد[۷]

[۱]کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ،کرمان، ایران
[۲]مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشجوی دکترای گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۳]دانشجوی دکترای بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۴]مربی گروه بهداشت حرفه ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران
[۵]دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۶]کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، عضو هیئت علمی دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
[۷]کارشناس آزمایشگاه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران
نویسنده مسئول: دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران
پست الکترونیک:mzare@hums.ac.ir

وصول:۹۰/۷/۱۳ اصلاح:۹۱/۲/۲۷پذیرش:۹۱/۳/۱۸

چکیده

زمینه و هدف: *بررسی سمیت نانوذرات قبل از توسعه هرچه بیشتر صنعت نانوتکنولوژی ضروری است. در این مطالعه به بررسی سمیت نانوذرات ZnO با استفاده باکتری‌های موجود در لجن فاضلاب پرداخته شده است.*

مواد و روش کار: *محلول استوک نانوذرات (۱۰g/l) توسط محیط کشت مولرهینتون آگار رقیق شد تا غلظت‌های ۶۰۰۰mg/l- ۵ از آن بدست آید. از هریک از این غلظت‌ها، سه پتری دیش تهیه گردید و باکتری‌های خالص‌سازی شده بر روی آن‌ها، کشت داده شدند. سپس درصد بازدارندگی رشد با مقایسه نمونه‌های حاوی نانو ذرات و نمونه‌های شاهد تعیین گردید. این اطلاعات با استفاده از آنالیز پروبیت در نرم‌افزار SPSS ver 16.0 آنالیز شد و براساس آن غلظت موثر ۵۰٪ (EC_{50})، غلظت بدون بازدارندگی رشد (NOEC) و ۱۰۰٪ بازدارندگی رشد تعیین گردید.*

یافته ها: *میزان EC_{50} نانوZnO با استفاده از اشرشیاکلی، باسیلوس‌سوبتیلیس، استافیلوکوک‌اورئوس و پسودوموناس‌آئروژینوزا به‌ترتیب ۱۸۱/۷، ۶۵۶/۴، ۹۳/۹ و ۹۳۵/۸mg/l بود. همچنین مشخص گردید سمیت نانوZnO تا حد زیادی بالا بوده به طوری که محاسبه NOEC نشان داد که کمترین ذره از این نانو ذره برای تمام باکتری‌های مورد آزمایش سمی بوده و به همین دلیل NOEC برای این باکتری‌ها صفر محاسبه شد. نتایج ۱۰۰٪بازدارندگی رشد نشان داد که در غلظت ۲۸۱۳mg/l از نانوZnO ۱۰۰٪ بازدارندگی رشد برای همه باکتری‌ها رخ می دهد.*

نتیجه گیری: *این مطالعه نشان داد در بین چهار باکتری مورد آزمایش، جهت تعیین سمیت نانوZnO ا. اورئوس و جهت کاربردهای ضدباکتریایی پ. آئروژینوزا اندیکاتورهای مناسبی هستند.*

واژه های کلیدی: *سمیت، نانوذرات، ZnO، EC_{50}، باکتری، لجن تصفیه خانه فاضلاب*

مقدمه

در تعیین سمیت مواد مختلف می‌توان از موجودات و گونه‌های مختلفی استفاده کرد اما همواره سعی بر این است تا در این گونه آزمایشات، حساس‌ترین موجود شناسایی و استفاده گردد. چرا که در صورت استفاده از این موجودات حساس، می‌توان داده‌های حاصل را با ضریب اطمینان بالاتری به دیگر موجودات و از جمله انسان تعمیم داد. در بین موجودات مختلف باکتری‌ها به دلیل وفور زیاد و کشت و پرورش آسان گونه‌های مناسبی هستند. وفور زیاد در محیط، کاربرد نتایج در محیط‌های

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2024-04-19]

واقعی را عملی‌تر می‌کند. از طرف دیگر این موجودات، برخلاف آلگ‌ها، نماتودها و سخت‌پوستان که جزء پرکاربردترین موجودات در تعیین سمیت هستند [۱-۴] ، نیاز به محیط آبی نداشته و در محیط‌های جامد و با رطوبت بسیار پایین نیز امکان رشد دارند. بنابراین موجودات مناسبی جهت تعیین سمیت می‌باشند. از طرف دیگر نانوذرات ZnO جزء پرکاربردترین نانوذرات می‌باشند که در مقیاس صنعتی تولید می‌شوند. نانوZnO در کرم‌های ضدآفتاب، رنگدانه‌ها، کابل‌های برق، سرامیک‌ها و... کاربرد دارد [۵]. با وجود اینکه منافع نانومواد، انکارناپذیر است اما باید توجه داشت که چنین کاردبرد گسترده‌ای باعث ورود میلیون‌ها تن نانومواد به محیط، منابع آب و زنجیره غذایی می شود [۶]. لذا جهت جلوگیری از عواقب یک صنعت نوظهور ضروری است که تمام جوانب آن، از جمله سمیت مواد وارد شده به محیط مورد ارزیابی قرار گیرد. در خصوص سمیت نانوذرات مطالعات مفیدی صورت گرفته است که خطرات تحمیلی به انسان و محیط را مورد ارزیابی قرار داده‌اند [۷-۱۰]. اما بیشتر مطالعاتی که سمیت اکسیدهای فلزی نانوذرات را مورد بحث قرار داده‌اند بیشتر بر موجودات یوکاریوت و پرسلولی و بخصوص بر سلول‌های سرطانی تاکید داشته‌اند و مطالعات اندکی اثر آن‌ها را بر باکتری‌ها مورد ارزیابی قرار داده‌اند. در این خصوص بلاک و همکاران در مورد نانوTiO2 ارتقاء یافته با نور خورشید در محیط‌های آبی،گزارش کردند که محلول ۱٪ از نانو TiO_2 بهترین غلظت جهت از بین بردن باکتری‌هاست و غلظت‌های ۱۰ برابر این مقدار (کمتر یا بیشتر) اثرات کمتری دارند [۱۱]. در مطالعه دیگری در سال ۲۰۰۷ سمیت نانوZnO با استفاده از یک باکتری مورد بررسی قرار گرفت [۱۲]. در آن مطالعه بازدارندگی رشد معنی‌داری در رشد اشرشیا کلی، در غلظت ۳mmol گزارش شد. همچنین مشخص شده است که نانوZnO خواص ضدباکتریایی بیشتری بر باسیلوس سوبتیلیس نسبت به اشرشیاکلی دارد [۱۳] در این مطالعه حداقل غلظت بازدارندگی رشد برای ب. سوبتیلیس ppm ۱۲۵۰۰-۲۰۰۰ و در مورد ا. کلی این میزان ppm ۱۰۰۰۰۰-۵۰۰۰۰ بر حسب اندازه نانوذرات گزارش شد.

هر چند مطالعات معدودی درمورد اثر نانوذرات بر باکتری‌ها در محیط‌های آبی صورت گرفته است اما بر اساس مطالعات گذشته مشخص شده است که در محیط‌های آبی، قطر نانوذرات به دلیل خواص جذبی بالای آن‌ها و همچنین تماس آن‌ها با یکدیگر، افزایش می یابد [۱۴-۱۵]. از طرف دیگر قطر نانوذرات در میزان ورود آن‌ها به درون باکتری‌ها و درنتیجه میزان سمیت آن‌ها موثر است [۱۵-۱۶]. در نتیجه می‌توان گفت یکی از اشکالات مطالعاتی که در بررسی سمیت نانوذرات در محیط‌های آبی صورت گرفته است، توده‌ای شدن نانوذارت و درنتیجه ته‌نشین شدن آن‌هاست که این امر باعث می‌شود مواجهه باکتری‌ها و نانوذرات با یکدیگر کمتر شده و درنتیجه میزان سمیت کمتر از میزان واقعی گزارش شود. بر این اساس نیاز است سمیت این مواد در محیط‌های جامد نیز مورد بررسی قرار گیرد.

از طرف دیگر مقایسه مطالعات گذشته در خصوص سمیت نانوذارت که با استفاده از یک باکتری خاص و واحد صورت گرفته است نشان می‌دهد که نتایج این مطالعات تا حد زیادی با یکدیگر تفاوت دارند که این تفاوت‌ها عمدتا به دلیل شرایط آزمایشگاهی، تفاوت‌های ژنتیکی باکتری‌های مورد استفاده و همچنین ویژگی‌های مواد شیمیایی و محیط کشت‌های مورد استفاده می‌باشد [۵,۱۰] بنابراین جهت بهترین مقایسه و تعیین موجود مناسب‌تر جهت تعیین سمیت دیگر نانوذرات بهتر است، باکتری‌های مختلف همزمان در یک مطالعه مورد بررسی قرار گیرند، تا اثر تفاوت در پارامترهای ذکر شده تا حد امکان به حداقل برسد. این در حالی است که اغلب مطالعات تنها بر روی یک باکتری و یا در محیط‌های آبی صورت گرفته‌اند [۵, ۱۲, ۱۷-۱۸]. به علاوه در مطالعات گذشته به طور مشخص EC_{50} (غلظتی از مواد بازدارنده که باعث مرگ ۵۰٪ جمعیت مورد آزمایش می شود) تعیین نشده است و این امر موجب می‌گردد مقایسه نتایج مشکل‌تر گردد. بنابراین این تحقیق اولین مطالعه جامعی است که به بررسی اثر نانوذرات ZnO بر چهار نوع باکتری ا. کلای، ا. اورئوس، پ. آوئروژینوزا و ب. سوبتیلیس می‌پردازد تا ضمن تعیین موجود مناسب‌تر جهت این گونه آزمایشات، به بررسی اثرات سمی نانوذرات نیز بپردازد. همچنین

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2024-04-19]

تعیین ۱۰۰٪ بازدارندگی رشد نانوZnO در این مطالعه می‌تواند منجر به شفاف‌سازی کاربرد نانوذرات به عنوان عوامل ضدباکتریایی شود. به طوری که مشخص شده است در مقایسه با مواد آلی، مواد معدنی (همچون نانوذرات) در فشار و دمای بالاتر دارای ثبات و ایمنی بیشتری هستند [۱۸]. بنابراین نتایج این تحقیق می‌تواند به کاربردهای وسیع نانوذرات شامل عوامل ضدباکتریایی، مواد بهداشتی و کاربرد درمانی منجر شود.

روش کار

این مطالعه در پاییز سال ۱۳۸۹ در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی کرمان صورت پذیرفت. نانوذرات ZnO با قطر ۲۰nm درجه خلوص ۹۹٪ و سطح ویژه ۹۰ m^2/g از شرکت Merck آلمان تهیه گردیدند. سپس محلول‌های استوک (۱۰ گرم در لیتر) از نانوذرات تهیه شد و جهت کنترل توده‌ای شدن و همچنین ایجاد یکنواختی در اندازه و پراکندگی این محلول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه درون دستگاه سونیکاتور قرار داده شدند. بر اساس کتاب روش‌های استاندارد آزمایشات [۱۹] (شماره 8010 D) جهت تعیین EC_{50} حداقل ۵ غلظت از محلول‌های مورد آزمایش نیاز است، اما در این مطالعه، با توجه به نتایج مطالعات قبل و همچنین جهت افزایش دقت، میزان بازدارندگی رشد در ۱۴ غلظت و در محدوده ۶۰۰۰ mg/l-۵ مورد بررسی قرار گرفت. جهت تهیه این غلظت‌ها محلول‌های استوک نانوذرات با استفاده از محیط کشت مولر هینتون آگار رقیق گردید. پس از تهیه این غلظت‌ها در درون لوله‌های آزمایش دربدار، و قبل از تخلیه به درون پتری دیش، این محیط کشت‌ها اتوکلاو شدند. پس از تخلیه این غلظت‌ها در درون پتری دیش، باکتری‌ها بر روی آن‌ها کشت داده شدند و درصد بازدارندگی رشد در مقایسه با نمونه شاهد تعیین گردید. جهت کاربردی شدن نتایج این تحقیق و بررسی خواص ضدباکتریایی نانوذرات در محیط‌های جامد و لجن فاضلاب، نمونه‌های باکتریایی از لجن حاصل از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر کرمان تهیه گردیدند. بدین منظور از خط لجن دفعی حوض ته نشینی ثانویه، لجن مربوطه به میزان ۰/۵ لیتر در ظرف پلاستیکی تهیه گردید و در کمتر از نیم ساعت به آزمایشگاه منتقل شد. پس از انتقال، نمونه‌های لجن بر روی محیط نوترینت آگار کشت داده شدند. این محیط کشت، جهت رشد باکتری‌ها و ایجاد کلنی به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. نوع باکتری‌های رشد کرده در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده بهداشت کرمان توسط تست‌های بیوشیمیایی تعیین و جداسازی گردید. پس از کشت مجدد این باکتری‌های جداسازی شده، از آن‌ها در تست‌های سمیت استفاده شد. تعداد باکتری‌های تلقیح شده به هر پلیت ۲۰۰CFU بود. تست مربوط به هر غلظت، سه بار انجام شد و میانگین آن‌ها به عنوان میزان بازدارندگی رشد در هر غلظت تعیین گردید. این نتایج در آنالیز پروبیت در نرم‌افزار SPSS ver.16.0 آنالیز شد. نتایج این آنالیز در رسم نمودراهای دوز-پاسخ استفاده شد. غلظت بدون اثر بازدارندگی (NOEC) نیز با آنالیز پروبیت تعیین شد. بر این اساس غلظتی که در آن میزان بازدارندگی رشد باکتری‌ها کمتر از ۱۰٪ بود، به عنوان NOEC گزارش شد. جهت مقایسه داده های حاصل از آنالیز پروبیت، از آزمون Independent sample t-test در نرم‌افزار SPSS ver.16.0 با حدود اطمینان ۹۵٪ استفاده شد.

یافته‌ها

تعیین گونه‌های باکتریایی فراوان در لجن فاضلاب شهر کرمان نشان داد چهار گونه باکتریایی ا. کلای، ا. اورئوس، پ. آوئروژینوزا و ب. سوبتیلیس در لجن این فاضلاب فرآوانی زیادی دارند. بنابراین آزمایشات با استفاده از این باکتری‌ها صورت گرفت. خلاصه نتایج آنالیز پروبیت در جداول ۳-۱ و نمودار ۱ آورده شده است.

بر اساس نتایج حاصله، کمترین مقدار EC_{50} (mg/l ۹۳/۹) نانوZnO با استفاده از ا. اورئوس و بیشترین مقدار آن (mg/l ۹۳۵/۸) با استفاده از پ. آئروژینوزا بدست آمد. در بین این دو مقدار، EC_{50} ا.کلای (mg/l ۱۸۱/۷) و ب. سوبتیلیس (mg/l ۶۵۶/۴) قرار می‌گیرد. تعیین NOEC نشان داد که این مقدار برای هر چهار باکتری صفر می‌باشد. با این تفاوت که حد بالا و پایین NOEC برای هر گونه باکتریایی خاص می‌باشد و نسبت به دیگر گونه‌ها متفاوت است. طبق جدول ۳ مقادیر ۱۰۰٪ بازدارندگی رشد نانوZnO با استفاده از پ. آئروژینوزا، ب. سوبتیلیس،

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2024-04-19]

جدول ۱: EC_{50} نانوZnO با استفاده از باکتری‌های مختلف

باکتری	EC_{50} (mg/l)	حد پایین EC_{50}	حد بالای EC_{50}
ا. کلای	۱۸۱/۷	۱۴۱/۶	۲۳۲/۴
ا. اورئوس	۹۳/۹	۴۸/۶	۱۴۶/۹
پ. آوئروژینوزا	۹۳۵/۸	۷۰۱/۴	۱۲۰۵/۳
ب. سوبتیلیس	۶۵۶/۴	۵۳۶/۶	۷۸۰/۸

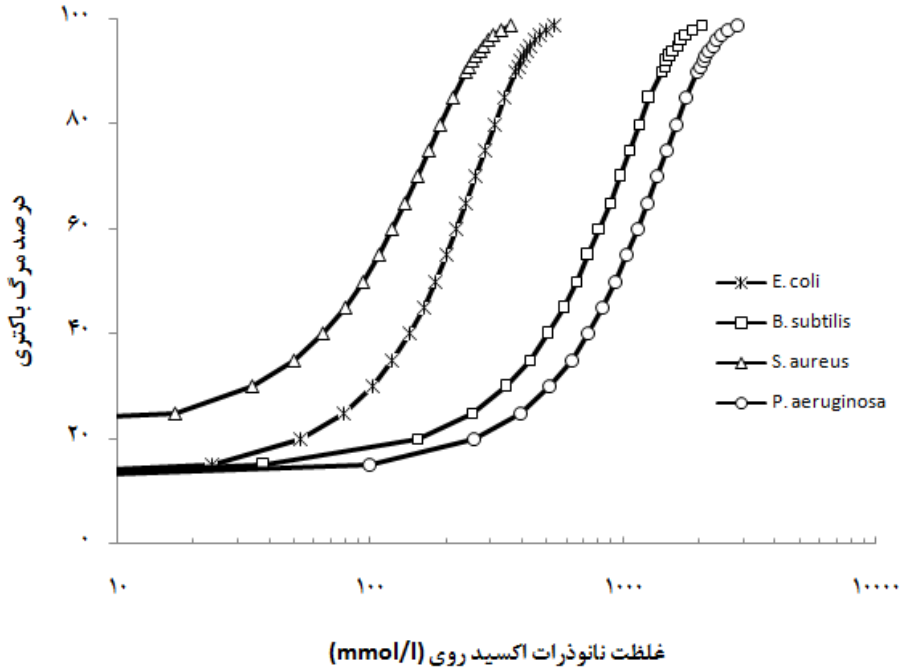
جدول ۲: NOEC نانوZnO با استفاده از باکتری‌های مختلف

باکتری	NOEC (mg/l)	حد پایین NOEC	حد بالای NOEC
ا. کلای	۰	-۹۱/۹	۳۵/۵
ا. اورئوس	۰	-۱۸۵/۹	۳/۸
پ. آوئروژینوزا	۰	-۶۶۹/۸	۲۱۴/۴
ب. سوبتیلیس	۰	-۳۶۴/۴	۶۵/۷

جدول ۳: ۱۰۰٪ بازدارندگی رشد نانوZnO با استفاده از باکتری‌های مختلف

باکتری	۱۰۰٪ بازدارندگی رشد (mg/l)	حد پایین ۱۰۰٪ بازدارندگی رشد	حد بالای ۱۰۰٪ بازدارندگی رشد
ا. کلای	۵۳۶/۴	۴۳۵/۵	۷۱۹/۸
ا. اورئوس	۳۵۹/۵	۲۶۳/۰	۶۱۷/۹
پ. آوئروژینوزا	۲۸۱۳/۰	۲۲۵۴/۴	۳۹۴۰/۲
ب. سوبتیلیس	۲۰۴۴/۰	۱۷۵۵/۴	۲۴۹۵/۴

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2024-04-19]



نمودار ۱: نمودار دز-پاسخ باکتری‌های مختلف در غلظت‌های مختلف نانوZnO (این نمودارها با استفاده از داده های حاصل از آنالیز پروبیت ترسیم شده اند).

ا.کلای و ا. اورئوس به ترتیب ۲۸۱۳/۰، ۲۰۴۴/۰، ۵۳۶/۴ و ۳۵۹/۵ بدست آمد. این نتایج نشان می‌دهد بیشترین غلظت نانو ZnO جهت جلوگیری از ۱۰۰٪ رشد باکتری‌ها، برای پ. آئروژینوزا و کمترین مقدار آن برای ا. اورئوس نیاز است.

بر اساس نمودار ۱ بین غلظت نانو ZnO و سمیت این ماده ارتباط معنی‌داری وجود دارد، بدین صورت که با افزایش غلظت، سمیت نیز افزایش می‌یابد. در این مورد ضریب همبستگی پیرسن در تمام موارد بیش از ۰/۹۸ و P کمتر از ۰/۰۵ محاسبه شد.

بحث

در تعیین بیواندیکاتورها (شاخص‌های زیستی)، لازم است آن‌ها از بین گونه‌های انتخاب شوند که فراوانی زیادی در محیط داشته باشند و کشت و پرورش آنها آسان باشد، این مطالعه نشان داد چهار گونه باکتریایی ا. کلای، ا. اورئوس، پ. آوئروژینوزا و ب. سوبتیلیس در لجن فاضلاب فرآوانی زیادی دارند و کشت و پرورش آن‌ها آسان می‌باشد. بنابراین از این نظر در تعیین بیواندیکاتور مناسب جهت بررسی سمیت نانوذرات مناسب هستند. بر اساس نتایج این باکتری‌های مختلف به یک نوع نانوذره و در غلظت‌ها و شرایط یکسان، پاسخ‌های متفاوتی می‌دهند. با تعیین EC_{50} مشخص شد ا. اورئوس حساس‌ترین باکتری و پ. آئروژینوزا مقاوم‌ترین باکتری به نانوذرات ZnO می‌باشد. بنابراین می‌توان گفت در آزمایشات تعیین سمیت، در بین این چهار باکتری مورد آزمایش، ا. اورئوس مناسب‌ترین باکتری می‌باشد. چرا که در این‌گونه آزمایشات، تکیه بر داده‌های حاصل از موجودی مناسب است که حساسیت بالایی داشته باشد و ضریب اطمینان بالاتری فراهم کند. بر این اساس واضح است استفاده از سه گونه باکتریایی دیگر، توصیه نمی‌شود. البته از نظر کاربردهای ضدباکتریایی نانوذرات، پ. آئروژینوزا شاخص زیستی مناسبی است، چرا که به دلیل مقاومت بالای آن، نابودی کامل آن به معنی نابودی سایر گونه‌های حساس‌تر و ضعیف‌تر است. بر این اساس نتایج ۱۰۰٪ مرگ نشان می‌دهد در محیط‌های جامدی که چهار گونه ا. کلای، ا. اورئوس، پ. آوئروژینوزا و ب. سوبتیلیس وجود دارند، ۲۰۴۴ mg/l از نانوذرات ZnO هر چهار گونه به طور کامل نابود خواهند شد.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2024-04-19]

در این خصوص تاکنون مطالعه جامعی بدین صورت که EC_{50} با استفاده از چند باکتری و در محیط جامد تعیین شده باشد، صورت نگرفته است اما در تحقیقی که توسط آدامز و همکاران [۵] صورت گرفت، غلظت بازدارنده رشد در ۴۸٪ گونه های ا.کلای در غلظت ppm ۱۰۰۰ از نانوذرات ZnO گزارش شد. در حالی که در تحقیق حاضر، این مقدار mg/l ۱۸۱/۷ بدست آمد. این تفاوت زیاد در نتایج این دو مطالعه عمدتا به دلیل تفاوت در نوع نانوذرات و روش آزمایشات می‌باشد. در مطالعه آدامز و همکاران، علاوه بر اینکه قطر نانوذرات بسیار بیشتر از قطر نانوذرات استفاده شده در این مطالعه بود، آزمایشات نیز در محیط کشت مایع و همراه با اختلاط بود. در آزمایشاتی که در محیط‌های مایع و محلول بر روی باکتری‌ها صورت می‌گیرد، نیاز است جهت جلوگیری از رسوب نانوذرات، محلول‌ها اختلاط داده شوند، اما اختلاط باعث به هم چسبیدن و تجمع نانوذرات به دور هم و درنتیجه افزایش قطر آن‌ها می شود [۲۰]، افزایش قطر به نوبه خود باعث نفوذ کمتر این مواد به سلول‌ها و ارگان‌ها می‌شود، درنتیجه سمیت واقعی این مواد کمتر از مقدار واقعی ثبت خواهد شد. این موضوع می‌تواند دلیل اصلی محدوده گسترده غلظت‌های بازدارنده رشد در آزمایشات آدامز و همکاران نسبت به تحقیق حاضر نیز باشد. طی مطالعه این افراد، غلظت‌های 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، با استفاده از ا. کلای نشان داد، محدوده غلظت برای ۵۰٪ مرگ و NOEC بین صفر تا mg/l ۱۸۱/۷ بود. همان‌گونه که پیش از این عنوان شد در روش‌های مختلف تعیین سمیت یک ماده واحد، تستی که سمیت بیشتری را نشان دهد، ضریب اطمینان بالاتری دارد، بنابراین پیشنهاد می‌شود، درمورد نانوذرات همزمان از روش‌هایی که در آنها نانوذرات در یک محیط غیرمایع، ثابت شده باشند (همچون روش به کار رفته در مطالعه حاضر) نیز استفاده شود تا اثرات سمی بالقوه نانوذرات بهتر آشکار گردد.

در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۹ انجام گرفت، سمیت ZnO و سه نانوذره دیگر توسط یک سخت پوست (دافنیا مگنا) و یک باکتری (ویبریو فیشری)، مورد مقایسه قرار گرفت. در مطالعه این افراد EC_{50} و NOEC به ترتیب mg.dm-3 به دست آمد. در این مطالعه نیز علاوه بر متفاوت بودن روش آزمایش، نوع باکتری نیز متفاوت است. بنابراین قابل انتظار است که نتایج مطالعه حاضر با نتایج این مطالعه متفاوت باشد. در مطالعه مذکور تعیین میزان مرگ باکتری ها از طریق تعیین میزان بیولومینسانس انجام گرفته است [۲۰].

در این مطالعه میزان NOEC برای هر چهار باکتری صفر گزارش شد و این بدین معنی‌است که کمترین غلظت از نانوذرات ZnO برای هر چهار گونه باکتری ا. کلای، ا. اورئوس، پ. آئوروژینوزا و ب. سوبتیلیس سمی می‌باشد. شایان ذکر است که در غلظت‌های مورد آزمایش در غلظت کمتر از mg/l ۰/۰۵ هیچ‌گونه کاهش رشدی در تعداد هیچ یک از گونه‌های باکتریایی مشاهده نشد (نتایج نشان داده نشده است)، اما بر اساس نتایج آنالیز پروبیت این میزان، صفر محاسبه شد و با توجه به اینکه نتایج NOEC نیز بیشتر در موارد تعیین سمیت کاربرد دارد (و نه کاربردهای ضدباکتریایی)، این اختلاف در نتایج غلظت‌های واقعی و نتایج آنالیز پروبیت نشان دهنده افزایش ضریب اطمینان در کاربرد آنالیز پروبیت برای آنالیز نتایج مربوط به تعیین سمیت مواد است. به عبارت دیگر این اختلاف نشان می‌دهد آنالیز پروبیت محاسبه NOEC را با ضریب اطمینان بیشتری نسبت به حالت واقعی گزارش می‌کند و این می‌تواند یکی از مزایای استفاده از این آزمون در آنالیز نتایج باشد.

نتیجه گیری: هرچند این تحقیق نشان داد در بین چهار گونه باکتریایی ا. کلای، ا. اورئوس، پ. آئوروژینوزا و ب. سوبتیلیس که فراوانی زیادی در لجن فاضلاب دارند و می‌توانند شاخص‌های زیستی مناسبی باشند، ا. اورئوس در تعیین سمیت نانوذرات و پ. آئوروژینوزا در تعیین بهترین عوامل ضدباکتریایی، شاخص‌های مناسبی هستند اما مشخصا نیاز است گونه‌های باکتریایی دیگری که ممکن است در سایر محیط‌ها فرآوان باشند نیز مورد آزمایش قرار گیرند تا به تکمیل نتایج این مطالعه در تعیین بهترین شاخص کمک کنند. همچنین هر چند نتایج نشان دادند نانوذرات ZnO می‌توانند به طور بالقوه در لجن فاضلاب به عنوان عوامل ضدباکتریایی استفاده شوند اما نیاز است

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2024-04-19]

کاربرد عملی این مواد و همچنین جداسازی آن‌ها پس از کاربرد در لجن و جلوگیری از ورود آن‌ها به محیط مورد توجه و بررسی قرار گیرد. نتایج این مطالعه نشان داد گونه‌های باکتریایی مختلف، به غلظت‌های یکسانی از نانوذرات ZnO، پاسخ های متفاوتی می‌دهند. با تعیین دقیق‌تر این غلظت‌ها برای هرگونه باکتریایی می‌توان از آن‌ها در کاربردهای بهداشتی، درمانی و آزمایشی وسیعی استفاده کرد.

تشکر و قدر دانی: این طرح مورد حمایت معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمان قرار گرفته و به انجام رسیده پژوهشگران از کمیته تحقیقات پزشکی محیطی دانشگاه علوم پزشکی کرمان که با تصویب این طرح راه را برای انجام مطالعه هموار نمودند سپاس گزاری می نمایند.

References

1. Heinlaan M, Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO2 to bacteria Vibrio fischeri and crustaceans Daphnia magna and Thamnocephalus platyurus, Chemosphere 2008; 71: 1308-1316.
2. Kahru A, Dubourguier H, Kasemets A, Biotests and Biosensors for Ecotoxicology of Metal Oxide Nanoparticles, A Minireview, Sensors 2008; 8: 5153 -5170.
3. Wang X, Xing B, Sorption of Pyrene by Regular and Nanoscaled Metal Oxide Particles Influence of Adsorbed Organic Matter, Environ Sci Technol 2008; 42: 7267-7272.
4. Wang H, LWick R, Xing B, Toxicity of nanoparticulate and bulk ZnO, Al2O3 and TiO2 to the nematode Caenorhabditis elegans, Environ Pollut 2009; 157(4): 1171-1177.
5. Adams LK, Lyon D, Alvarez P, Comparative eco-toxicity of anoscale TiO2, SiO2, and ZnO water suspensions Water Research 2006; 40: 3527-3532.
6. Jones C, Grainger D, In vitro assessments of nanomaterial toxicity, Advance Drug Delive Rev, 2009; 61: 438-56.
7. Bystrzejewska G, Golimowski J, Urban P, Their potential toxicity waste and environmental management, Waste Manag 2009; 35: 718-730.
8. Barbu E, The potential for nanoparticle-based drug delivery to the brain: overcoming the blood-brain barrier, Ex Opin Drug Deliv 2009; 6(6): 553-565.
9. Lockman P, Oyewumi M, Koziara J, Brain uptake of thiamine-coated nanoparticles, J Controlled Release 2003; 93(3): 271-282.
10.Naddafi K, Zare MR, Nazmara S, Investigating potential toxicity of phenanthrene adsorbed to nano-ZnO using Daphnia magna, Toxicol Environ Chem 2011; 93(4): 729-737.
11.Block S, Seng V, Goswami D, Chemically enhanced sunlight for killing bacteria, Sol Energy Eng 1997; 119: 85-91.
12.Brayner R, Toxicological impact studies based on Escherichia coli bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium, Nano Lett 2006; 6: 866-870.
13.Sawai J, Effect of ceramic powders on spores of Bacillus subtilis, Chem. Eng. Japan 1995; 28: 288-293.
14.Navarro E, Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi, Ecotoxicology 2008;17(5): 372-386.
15.Baveye P, Laba M, Aggregation and toxicology of titanium dioxide nanoparticles, Environ Health Perspect 2008; 116(4): A152.
16.Sawai J, Effect of particle size and heating temperature of ceramic powders on antibacterial activity of their slurries Chem. Eng. Japan 1996; 29: 251-256.
17.Reddy K, Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems Applied Physics Letters 2007; 90: 213902-213901.
18.Liu Y, He L, Mustapha A, Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli O157:H7 Applied Microbiology 2009; 107: 1193-1201.
19.APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association), and WEF (Water Environment Federation), 2005, Standard methods for the examination of water and wastewater (21th ed.), Washington DC, USA.
20.Sovova T, Koci V, Kochankova L, Ecotoxicity of nano and bulk forms of metal oxides, Nanocon 2009; 10: 20-22.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2024-04-19]

Original Article

Comparison and determination of probable toxicity of ZnO nanoparticle by four current bacteria in wastewater sludge

*Toolabi A[1], Zare MR[2], Rahmani A[3], Zare M *[4], Asadi A[5], Sarkhosh M[5], Hossinzadeh E[6], Abedinejad M[7]*

[1]Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
[2]Environment Research Center, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[3]Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[4]Department of Occupational Health, School of Health, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran
[5]Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[6]Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Health, Lorestan University of Medical Sciences., Khorramabad, Iran
[7]Laboratory of School of Health, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran

***Corresponding Author**: Department of Occupational Health, School of Health, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran
Email mzare@hums.ac.ir*

Abstract

Background and Objectives: *Toxicity investigating is necessary before furthermore progressing the nanotechnology industry. This study investigates the toxicity of ZnO nanoparticle (NP) with using available bacteria in sludge wastewater.*

Methods: *The stock NPs suspensions (10g/L) were diluted with Mueller-Hinton Agar medium to achieve the 5-6000mg/l NPs concentrations. Each concentration was prepared in triplicate and The refined bacteria cultured on these media and growth inhibition percent of bacteria determined by comparing these cultured media with blank samples. These data analyzed using Probit analysis in SPSS ver 16.0 software and 50% effective concentration (EC_{50}), no observed effect concentration (NOEC) and 100% growth inhibition of NPs determined.*

Results: *The Nano ZnO EC_{50} was 181.7, 656.4, 93.9, and 935.8 mg/l for E. coli, B. subtilis, S. aureus, and P. aeruginosa respectively. Also it was revealed that nano ZnO have a high toxicity level as NOEC calculation showed the least particle of this nanoparticle is toxic to all tested bacteria species, so the NOEC calculated zero for these bacteria. The 100% growth inhibition showed at 2813 mg/l of nano ZnO concentrations, 100% growth inhibition occurred for all bacteria.*

Conclusion*: The results of this study are shown, S. aureus for determining of nano ZnO toxicity and P. aeruginosa for antibacterial applications, between four tested bacteria, are proper indicators.*

Key words: *Toxicity, Nanoparticles, ZnO, EC_{50}, bacterial, sludge of wastewater treatment plant*

Submitted:2011 Oct 5
Revised:2012 May 16
Accepted:2012 Jun 7

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2024-04-19]