



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد پنجم، شماره اول، بهار ۱۳۹۵
<http://japu.gau.ac.ir>

تعیین سمیت کشنده نانوذرات نقره روی دافنی ماگنای بالغ، *Daphnia magna*

*مریم اعتمادزاده^۱، رسول قربانی^۲، سید علی اکبر هدایتی^۳، محمد هرسیج^۴ و حدیثه کشیری^۳

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد بوم‌شناسی آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران،

^۲دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران، ^۳استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم

کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران، ^۴استادیار گروه شیلات، دانشگاه گنبد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۰۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۳۰

چکیده

استفاده از نانو ذرات نقره (با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر) به‌ویژه در حوزه سلامتی به‌صورت گسترده‌ای توسعه یافته است. دافنی ماگنا (*Daphnia magna*) به‌دلیل سادگی تکثیر و حساسیت بالا به تغییرات محیطی دارای کاربرد گسترده‌ای در مطالعات مربوط به آلودگی بو سازگان آبی می‌باشد. هدف از این پژوهش، تعیین سمیت کشندگی (LC₅₀ 96h) نانو ذرات نقره بر دافنی ماگنا بالغ بود. نمونه‌های دافنی ماگنا از استخرهای پرورش ماهی در گنبد تهیه و در آزمایشگاه در شرایط کنترل شده (دمای ۲۰±۱ درجه سانتی‌گراد و ۸:۱۶ ساعت روشنایی/ تاریکی اکسیژن محلول معادل ۸/۸۰ میلی‌گرم در لیتر، پی‌اچ معادل ۸، سختی کل معادل ۲۹۳ میلی‌گرم در لیتر، شوری معادل ۱/۸۶ قسمت در هزار) قرار گرفت. سپس از یک دافنی به‌منظور خالص‌سازی، ۳ نسل متوالی تهیه شد، تست سمیت حاد (LC₅₀) در ۴ غلظت مختلف (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ قسمت در میلیون) به‌همراه شاهد در ۳ تکرار انجام گردید و نتایج مرگ و میر در طی زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت اندازه‌گیری گردید. در این پژوهش میزان 48hLC₅₀ نانو ذرات نقره بر دافنی ماگنا ۰/۴۱۶ قسمت در میلیون به‌دست آمد. به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که نانو ذرات نقره سمیت بالایی برای دافنی ماگنا داشته و این سمیت با افزایش غلظت و همچنین با افزایش مدت مجاورت افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: نانو سم‌شناسی، دافنی ماگنا، سمیت کشندگی

*مسئول مکاتبه: ma.etemadzadeh@yahoo.com

مقدمه

فلزات سنگین یکی از آلوده‌کننده‌های محیط‌های آبی هستند که به دلیل سمیت و تجمع در بافت‌های بدن آبزیان مشکلات اساسی ایجاد می‌کنند (کارانو و همکاران، ۲۰۰۲). آلودگی فلزات سنگین ممکن است اثرات مخربی بر روی تعادل بوم‌شناختی و تنوع زیستی بوسازگان آبی داشته باشد (وینودهینی و نارایانان، ۲۰۰۸). میزان نقره به‌عنوان یکی از فلزات سنگین، در پوسته زمین در حدود ۰/۱ گرم در هر تن می‌باشد (تربالی و همکاران، ۲۰۱۲). در ایران مسئله آلودگی زیست‌محیطی به نانو ذرات که به‌تازگی وارد چرخه فرایندی صنایع کشور گردیده، از اهمیت چشم‌گیری برخوردار است چراکه در صورت توجه به این مسئله و اقدامات صحیح در زمینه مدیریت این ترکیبات جدید، می‌توان از آلودگی‌های به‌وجود آمده جلوگیری به‌عمل آورد. با استفاده از فناوری نانو، فلز نقره را به ذراتی کمتر از ۱۰۰ نانومتر تبدیل می‌کنند که به آن نانو ذرات نقره می‌گویند (اسچمید و ردیکر، ۲۰۰۸). نانوذرات نقره عمدتاً، به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی ویژه‌ای که از خود نشان می‌دهند امروزه در صنایع مختلف کاربرد فراوان دارند (گنگ و همکاران، ۲۰۰۷). از میان مواد نانوی گوناگون، نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2) و نانو ذرات نقره به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند (بلایس و گانگی، ۲۰۰۸). با این وجود، ممکن است این مواد طی مراحل ساخت و کاربرد وارد بوسازگان آبی شده و برای حیات آبزیان خطر آفرین شوند. شدت این خطرات به عوامل متعددی از جمله اندازه، نوع نانوذره، بار و گونه‌های آبی که در مقابله با آن‌ها قرار می‌گیرند بستگی دارد. در برخی از گونه‌ها بعضی برخی از اندام‌ها بیشتر از سایرین تحت تأثیر قرار می‌گیرند. در این میان، ورود نانو ذرات به زنجیره غذایی نیز یک موضوع بسیار جدی می‌باشد. به هر حال تعیین میزان آسیب‌رسانی نانو ذرات مختلف بر حیات آبزیان نیازمند مطالعات زیادی می‌باشد (سلیمانی و همکاران، ۲۰۱۶).

در بین زی‌شناوران جانوری، کشت دافنی‌ها به‌خصوص دافنی ماگنا به‌عنوان یک شاخص حساس در مقابله با مواد سمی، در آزمایشگاه ساده می‌باشد. در حقیقت، حساس‌ترین بی‌مهره آبی در مقابل سموم است می‌باشد، به همین دلیل به‌طور گسترده‌ای در مطالعات بوم‌شناسی به‌کار می‌رود (فلاحی و همکاران، ۱۹۹۸). امروزه بوم‌شناسی در بوسازگان آبی شیوه‌ای جدید و کارا، جهت سنجش اثرات آلاینده‌ها بر روی موجودات غیرهدف می‌باشد و در این زمینه، تغییر در کار اندام، عادات و رفتار موجودات آبی از قبیل تنفس، تغذیه و شنا کردن می‌تواند جزء عکس‌العمل‌های اولیه یک موجود، در مقابل فشارهای محیطی ناشی از مواد سمی باشد که می‌تواند سایر مشاهدات از قبیل: کاهش نرخ بقا،

کاهش رشد و زادوولد و غیره را تفسیر نماید (بایر و همکاران، ۲۰۰۹). بررسی حاضر به معرفی گونه دافنی ماگنا به عنوان یک جاذب زیستی آلاینده‌های نو ظهور پرداخته است که می‌تواند در خروجی فاضلاب‌های صنعتی مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

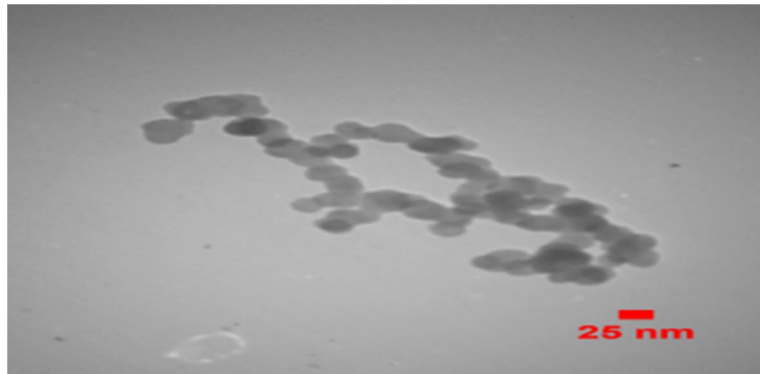
آماده‌سازی و خالص‌سازی گونه: دافنی‌های مورد نیاز برای انجام این آزمایش، از استخرهای پرورش ماهی در شهرستان گنبد تهیه شدند. آنگاه از یک دافنی، ۳ نسل متوالی در سالن شهید ناصر فضلی بر آبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه شد تا همگی دارای یک مولد و به صورت خالص باشند قابل ذکر است که در تمام مراحل آزمایش از دافنی‌های با اندازه مشابه استفاده شد. محیط کشت مورد نیاز برای پرورش دافنی‌ها از ۵ گرم کود خشک، ۲۵ گرم خاک و یک لیتر آب مقطر تهیه شد. بعد از چند روز مواد مغذی لازم به دست آمد و محیط کشت فیلتر و شیرابه آن جهت تکثیر دافنی مورد استفاده قرار گرفت. برای تکثیر دافنی‌ها از ظرف شیشه‌ای دهان‌گشاد به حجم ۵ لیتر که حاوی ۳ لیتر محیط کشت بود، استفاده شد. هوادهی با استفاده از پمپ هوای آکواریومی انجام گرفت. برای تغذیه دافنی‌ها یک روز بعد از کشت اولیه، یک میلی‌گرم مخمر خشک به آب هر بطری هر یک روز در میان اضافه گردید (عسکری و همکاران، ۲۰۰۴).

تست سمیت: نانو ذرات نقره استفاده شده در این تحقیق با قطر ۲۰ نانومتر و چگالی واقعی ۱۰/۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان، واردکننده نانو ذرات آمریکا تهیه گردید. این ماده کاملاً محلول در آب بوده و ماده حامل نانو ذرات نقره در این محصول آب مقطر می‌باشد. غلظت نانوذرات نقره ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. زمان انجام آزمایش غلظت کشندگی، ۹۶ ساعت برای بالغین دافنی ماگنا بود و میزان مرگ‌ومیر برای بالغین در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲، و ۹۶ ساعت محاسبه شد. تعداد مرگ‌ومیر از زمان القای آلاینده تا ساعت ۲۴، مرگ‌ومیر روز اول محسوب شد. هم‌چنین تعداد مرگ‌ومیر از زمان القای آلاینده تا ۴۸ ساعت، مرگ‌ومیر روز دوم، تعداد مرگ‌ومیر از زمان القای آلاینده تا ۷۲ ساعت، مرگ‌ومیر روز سوم و تعداد مرگ‌ومیر از زمان القای آلاینده تا ۹۶ ساعت، مرگ‌ومیر روز چهارم در نظر گرفته شد (دی جیلیو و هیتون، ۲۰۰۸). که آزمایش انجام شده بر مبنای زمان‌های بالا صورت گرفت. از آنجایی که غلظت آلاینده‌ها در حد قسمت در میلیون بود ابتدا محلول استوک یا ذخیره تهیه شد. برای این کار از یکصد سی‌سی آب مقطر و یک سی‌سی نانو ذرات نقره استفاده شد.

جهت انجام آزمایش سمیت، برای نانوقره ۴۰۰۰ قسمت در میلیون غلظت‌های ۱، ۲، ۰/۵، ۰/۲۵ تهیه شد و هر آزمایش و هر تیمار با ۳ تکرار بود و در هر تیمار ۱۵ دافنی قرار داده شدید طول دوره ۹۶ ساعته در غلظت ۰/۲۵ قسمت در میلیون به‌طور متوسط ۱۰ نوزاد تولیدمثل شد. در طول مدت آزمایش سمیت حاد، غذادهی قطع شد. جهت انجام تست سمیت تا حد امکان شرایط آزمایشگاهی ثابت نگاه‌داشته می‌شود تا تأثیر این عوامل به حداقل برسد. و یک شاهد برای کل آزمایش در غلظت‌های مختلف در نظر گرفته شد، سپس نتایج شمارش تعداد دافنی‌های مرده در هر ظرف به‌ترتیب بعد از ۱۲، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت شد. عوامل فیزیکی و شیمیایی آب نیز طی انجام مراحل اصلی آزمایش شامل دما: 20 ± 1 درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول: $8/80 \pm 0/05$ میلی‌گرم در لیتر، pH: $8 \pm 0/21$ سختی کل: $293 \pm 2/35$ میلی‌گرم در لیتر و شوری: $1/86$ قسمت در هزار بود. کلیه مراحل آزمایش در ۱۶ ساعت روشنایی و به دنبال آن ۸ ساعت تاریکی انجام گردید. و برای جلوگیری از اسیدی شدن آب به‌صورت یک روز در تخلیه گردید. سمیت حاد، سمیت حادیک مفهوم آماری است که بیانگر غلظتی از آلاینده است که موجب مرگ‌ومیر ۵۰ درصد از جمعیت یک‌گونه می‌گردد. بررسی مسمومیت غلظت کشنده یک نوع ماده سمی که ۵۰ درصد مرگ در یک جامعه جانوری را موجب می‌گردد، اندازه میانه این توزیع را رقم ۵۰ درصد غلظت کشنده تشکیل می‌دهد و اصطلاحاً به $LC50$ نمایش داده می‌شود. مقدار $LC50$ از آزمایش روی نمونه‌ای از جامعه جانوری به‌دست می‌آید و مقداری است که به‌طور متوسط ۵۰ درصد از نمونه‌های تحت آزمایش را می‌کشد و ۵۰ درصد زنده می‌مانند. برای محاسبه غلظت کشنده ۵۰ درصد در دوره زمانی ۹۶ ساعته و تعیین حدود اطمینان ۹۵ درصدی، از نرم‌افزار پروبیت در نرم‌افزار SPSS16 استفاده گردید.

نتایج

نانو نقره استفاده‌شده در این تحقیق با قطر ۲۰ نانومتر بود. این ماده کاملاً محلول در آب بوده و ماده حامل نانوذرات نقره در این محصول، آب مقطر می‌باشد (شکل ۱).



شکل ۱- ذرات نانونقره مورد استفاده در این پژوهش.

تعداد مرگ و میر نسبی دافنی‌ها در غلظت‌های مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده‌اند.

جدول ۱- تعداد مرگ‌ومیر نسبی بالغین دافنی ماگنا *Daphnia magna* در تست تعیین سمیت کشندگی نانو ذرات نقره (تعداد کل = ۴۵).

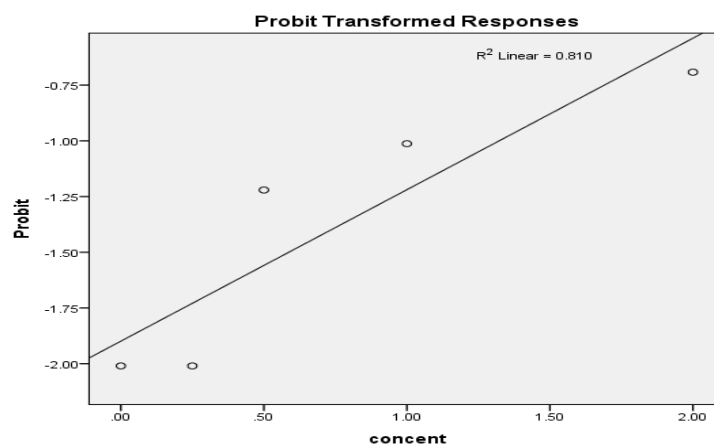
غلظت نانو ذرات نقره (قسمت در میلیون)	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
شاهد	۱	۷	۲۹	۴۳
۰/۲۵	۱	۱۴	۳۹	۴۵
۰/۵	۵	۳۳	-	-
۱	۷	۳۹	-	-
۲	۱۱	۴۵	-	-

مطابق با جدول زیر، در تیمار شاهد تلفات موردی مشاهده شد. میزان مرگ‌ومیر در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ قسمت در میلیون پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۱، ۱، ۵، ۷، ۱۱ به دست آمد. بر اساس این نتایج، غلظت کشنده ۲۴ ساعته (LC50 24h) با حدود اطمینان ۹۵ درصد ۳/۰۴ قسمت در میلیون (حد پایینی برابر با ۲/۲۸۲ و حد بالایی برابر با ۵/۳۷۱ است). (جدول ۲).

بهره‌برداری و پرورش آبزیان (۵)، شماره (۱) بهار ۱۳۹۵

جدول ۲- غلظت کشته (LC₁₀₋₉₅) نانو ذرات نقره با حدود اطمینان ۹۵ درصد در طی زمان ۲۴ ساعت برای بالغین دافنی ماگنا.

LC	غلظت کشته	حدود اطمینان ۹۵ درصد	
		حد پایین	حد بالا
LC ₁₀	۰/۸۲۶	۰/۲۵۵	۱/۲۳۶
LC ₂₀	۱/۵۸۹	۱/۱۸۶	۲/۴۲۰
LC ₃₀	۲/۱۳۹	۱/۶۳۳	۳/۴۹۸
LC ₄₀	۲/۶۱۰	۱/۹۷۵	۴/۴۵۹
LC ₅₀	۳/۰۴۹	۲/۲۸۲	۵/۳۷۱
LC ₆₀	۳/۴۸۸	۲/۵۸۲	۶/۲۸۹
LC ₇₀	۳/۹۵۹	۲/۸۹۹	۷/۲۷۶
LC ₈₀	۴/۵۰۹	۳/۲۶۷	۸/۴۳۳
LC ₉₀	۵/۲۷۲	۳/۷۷۴	۱۰/۰۴۱
LC ₉₅	۵/۹۰۲	۴/۱۴۱	۱۱/۳۷۱



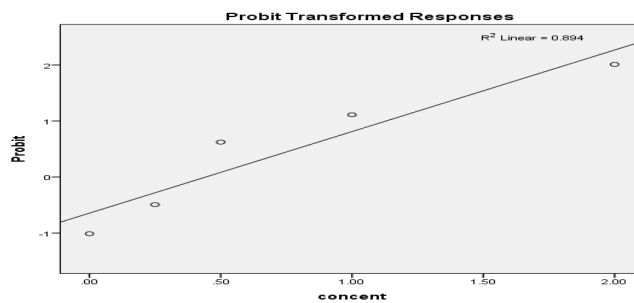
شکل ۱- غلظت کشته (LC₁₀₋₉₅) نانو نقره با حدود اطمینان ۹۵ درصد در طی زمان ۲۴ ساعت برای بالغین دافنی.

پس از گذشت ۴۸ ساعت در تیمار شاهد تلفات ناچیزی مشاهده شد میزان مرگ‌ومیر در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ قسمت در میلیون پس از ۴۸ ساعت به ترتیب ۱۴، ۳۳، ۳۹، ۴۵ به دست

آمد. بر این اساس میزان غلظت کشنده ۴۸ ساعته (LC50 48h) نانو ذرات نقره با حدود اطمینان ۹۵ درصد ۰/۴۱۶ قسمت در میلیون به دست آمد (جدول ۳).

جدول ۳- غلظت کشنده (LC₁₀₋₉₅) نانو ذرات نقره با حدود اطمینان ۹۵ درصد در طی زمان ۴۸ ساعت برای بالغین دافنی ماگنا.

LC	غلظت کشنده	حدود اطمینان ۹۵ درصد	
		حد پایین	حد بالا
LC ₁₀	-	-	-
LC ₂₀	-	-	-
LC ₃₀	۰/۱۲۸	-	-
LC ₄₀	۰/۲۷۷	-	-
LC ₅₀	۰/۴۱۶	-	-
LC ₆₀	۰/۵۵۵	-	-
LC ₇₀	۰/۷۰۴	-	-
LC ₈₀	۰/۸۷۸	-	-
LC ₉₀	۱/۱۲۰	-	-
LC ₉₅	۱/۳۱۹	-	-



شکل ۲- غلظت کشنده (LC₁₀₋₉₅) نانو ذرات نقره با حدود اطمینان ۹۵ درصد در طی زمان ۴۸ ساعت برای بالغین دافنی ماگنا.

بحث

شرایط زیست محیطی در تعیین سمیت نانو ذرات مهندسی شده مهم می باشد (سلیمانی و همکاران، ۲۰۱۶). اولین مرحله برای تعیین اثرات آلاینده ها آزمون سمیت حاد است که می تواند با استفاده از

باکتری‌ها، بی‌مهرگان و ماهی‌ها در راستای نشان دادن پتانسیل خطر این مواد شیمیایی انجام شود (یلماز و همکاران، ۲۰۰۴). این آزمون شواهد مستقیمی برای پاسخ‌های زیستی آبزیان به آلاینده‌ها ارائه می‌دهند. گونه‌های مختلف موجودات حساسیت متفاوتی به مواد آلاینده دارند. به همین علت تهیه یک استاندارد مناسب برای حفاظت از گونه‌ها با توجه به آلاینده‌های محیطی مشکل است. آزمون سمیت حاد ۹۶ ساعته برای سنجش قابلیت مستعد بودن و پتانسیل بقا جانوران در برابر مواد سمی از جمله فلزات سنگین انجام می‌شود (دی جیلیو و هیتتون، ۲۰۰۸). غلظت ۵ میکروگرم در لیتر نانو ذرات نقره نیز می‌تواند منجر به کاهش رشد و باروری دافنی گردد (ژائو و وانگ، ۲۰۱۱). فرناندزآلبا و همکاران (۲۰۰۲) تحقیقی در رابطه با سنجش سمیت با دافنی ماگنا، ویریوفیشری و ریز جلبک‌ها انجام دادند. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که از بین این موجودات، دافنی ماگنا و پس‌از آن ویریوفیشری، حساسیت بیشتری به آلاینده‌های محیطی دارند. ویلیگاسناوارا و همکاران (۱۹۹۹) در پژوهشی از دافنی ماگنا به‌عنوان شاخص سمیت و بازده تصفیه فاضلاب‌های صنایع نساجی استفاده کردند و در یافتن دافنی ماگنا می‌توان در کاهش بار آلی صنایع نساجی استفاده کرد. ژو و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی سمیت و تجمع زیستی نانو ذرات دی اکسید تیتانیم در دافنی ماگنا دریافتند که دافنی ماگنا مقادیری از دی اکسید تیتانیم را از طریق جذب از محیط آبی در خود انباشته می‌کنند در بررسی صورت گرفته توسط مؤمنی‌ها و همکاران (۲۰۱۲) در خصوص ارزیابی اثرات سمی نانو ذرات اکسید روی (ZnO) تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ با استفاده از دافنی ماگنا مشخص شد که با افزایش زمان تماس، مقدار LC50 کاهش یافته و سمیت نانو ذرات اکسید روی بر روی دافنی‌ها افزایش می‌یابد (آدام و همکاران، ۲۰۱۴). در طی تحقیقی نشان دادند نانو ذرات ZnO و نمک $ZnCl_2$ اثرات سمی مزمن مشابهی بر رشد، باروری و تجمع‌پذیری در دافنی ماگنا دارد.

نانو نقره، یکی از پرکاربردترین نانو ذرات در حوزه نانو پس از نانولوله‌های کربن است، که هر روز بر کاربرد آن در دنیای نانو افزوده می‌شود؛ یکی از دلایل کاربرد گسترده این ذرات، به دلیل خاصیت آنتی باکتریال این ذرات است (بلایس و گاگنی، ۲۰۰۸).

نتیجه‌گیری

در طی آزمون تعیین سمیت کشندگی نانو ذرات نقره بر روی دافنی ماگنا در غلظت‌های صفر و ۰/۲۵ قسمت در میلیون، مرگ و میراندگی مشاهده شد ولی در غلظت ۲ قسمت در میلیون، میزان

تلفات ۱۰۰ درصد بود در این پژوهش میزان $48hLC_{50}$ نانو ذرات نقره بر دافنی ماگنا ۰/۴۱۶ قسمت در میلیون به دست آمد. در طی مدت زمان ۲۴ الی ۹۶ ساعت با افزایش غلظت نانو ذرات نقره مرگ و میر نسبی دافنی‌ها افزایش پیدا کرد. دامنه تحمل دافنی‌ها در برابر نانو ذرات نقره تا ۴۸ ساعت می‌باشد و بعد از آن در سمیت زمانی ۷۲ و ۹۶ ساعت تمامی دافنی‌ها از بین رفتند.

به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که نانو ذرات نقره سمیت بالایی برای دافنی ماگنا داشته و این سمیت با افزایش غلظت و همچنین با افزایش مدت مجاورت افزایش معنی‌داری نشان داد. پیشنهاد می‌گردد به دلیل نوظهور بودن نانو ذرات و بروز اثرات احتمالی آن‌ها بر بوم‌سازگان آبی، طیف وسیعی از این مواد بر آبزیان شاخص و نمونه مورد بررسی قرار گیرند تا بتوان ارزیابی جامعی از کاربرد نانو ذرات در فعالیتهای انسانی و تعیین مقادیر استاندارد مربوطه نمود.

سپاسگزاری

از مسئولین دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Adam, N., Schmitt, C., and Galceran, J. 2014. The chronic toxicity of ZnO nanoparticles and ZnCl₂ to *Daphnia magna* and the use of different methods to assess nanoparticle aggregation and dissolution. *Nanotoxicology*. 8: 709-170.
2. Asgari, G.H., Movahedian, H., and Bina, B. 2004. Toxicity index of swage in in wastewater treatment plant of south of Isfahan by *Daphnia magna*. *Journal of Lorestan University of Medical Sciences*. 19(5): 57-62
3. Baer, K., McCooole, M.D., and Overturf, M.D. 2009. Modulation of sex ration in *Daphnia magna* following multigenerational exposure to sewage treatment plant effluents. *Ecotoxicol Environ Saf*. 72: 1545-1550
4. Blaise, C., and Gagne, F. 2008. Ecotoxicity of selected nano-materials to aquatic organisms. *Environ Toxicol*. 23(5): 591-598.
5. DiGiulio, R.T. and Hinton, D.E. 2008. *The Toxicology of Fishes*. *Engl Acad Rev*. 319-884
6. Fernandez-Alba, A.R., Hernando, D., Aguera, A., Caceres, J., and Malato, S. 2002. Toxicity assays: a way for evaluating AOPs efficiency. *Water Res*. 36: 4255-62.
7. Fallahi, M., Piri, M., Khodaparast, H., Salavatian, S., Saberi, H., and Abedini, AS. 1998. In Vitro Evaluation of washing (linear alkyl benzene sulfonate), on plankton wetland. *Guilan Fisheries Research Center*. 82p. (In Persian)

8. Gong, P., Li, H., He, X., Wang, K., Hu, J., Tan, W., and Yang, X. 2007. Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄@ Ag nanoparticles. *Nanotechnology*. 18(28): 285604.
9. Karan, V., Victoric, S., Tutundic, V., and Poleksic, V. 2002. Functional Enzymes Activity and Histology of Carp after Copper Sulfate Exposure and Recovery. *Ecotoxicol Environ Saf*. 40: 49-55.
10. Momeniha, F., Naddafi, K., Hasanvand, M.S., Banizadeh, R., and Heidari, M. 2012. Determine the toxicity of zinc oxide nanoparticles exposed to blue color 29 using *D. magna*. *J. Health Sys*. 8(2): 267-74.
11. Schmid, K., and Riediker, M. 2008. Use of nanoparticles in Swiss industry a targeted survey. *Environ Sci Tech*. 42: 2253-2256.
12. Soleimani, F., Nabipour, A., Faraji Ghasemi, F., and Dobaradaran, S. 2016. Effects of nanoparticles on human and environment: a review on toxicity, explosion, the ways of risk control and future perspective. *University of Medical Sciences and Health Services*. 3(18): 630-63.
13. Tarbali, N., Bahavar, M., Einollahi, N., and Nabatchian, F. 2012. Effect of silver nitrate on Ksydaz Pera horseradish peroxidase activity. *Kashan University of Medical Sciences Journal of grace*. 16(7): 713-714.
14. Villegas-Navarro, A., Gonzalez, M.C.R., Lopez, E.R., Aguilar, R.D., and Marcal, W.S. 1999. Evaluation of *Daphnia magna* as an indicator of toxicity and treatment efficacy of textile wastewaters. *Environ Int*. 25(5): 619-24.
15. Vinodhini, R., and Narayanan, M. 2008. Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio*. *Int J Environ Sci Tech*. 5: 179-182.
16. Yilmaz, M., Gul, A., and Karakose, E. 2004. Investigation of acute toxicity and the effect of Cadmium Chloride (CdCl₂.H₂O) metal salt on behavior of guppy (*Paecilia reticulata*). *Chemospher*. 56: 375-380
17. Zhao, C-M., and Wang, W-X. 2011. Comparison of acute and chronic toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate to *Daphnia magna*. *Environ Toxicol Chem*. 30(4): 885-92.
18. Zhu, X., Chang, Y., and Chen, Y. 2010. Toxicity and bioaccumulation of TiO₂ Nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*. *Chemosphere*. 78: 209-215