

## اثر وجود فنل در محیط های آبی بر سمیت نانوذرات اکسیدتیتانیوم غنی شده با آهن و اکسیدتیتانیوم غیر ترکیبی با آهن

محمد رضا زارع: دانشجوی دوره کارشناسی ارشد، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران، کاظم نادافی: دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران نویسنده رابط: knadafi@tums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۳/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۹/۳۰

### چکیده

زمینه و هدف: خواص ویژه و منحصر به فرد نانوذرات، خطرات احتمالی منحصر به فردی نیز به دنبال خواهد داشت. به علاوه این مواد در شرایط مختلف ممکن است سمیت های مختلفی داشته باشند، لذا در این تحقیق به بررسی سمیت نانوذرات  $TiO_2$  و Fe-doped  $TiO_2$  (Fe:TiO<sub>2</sub>) در دو حالت تماس یافته با فنل و بدون تماس با فنل پرداخته شده است.

روش کار: ابتدا محلول استوک نانومواد مورد بررسی ساخته شده و با فنل مواجهه داده شد. پس از تهیه غلظت های مختلف از محلول استوک، دافنیا مگنا با نانومواد مواجهه یافته و مواجهه نیافته با فنل تماس داده شد. میزان مرگ دافنی ها با استفاده از مدل پروبیت در نرم افزار SPSS 16 تجزیه و تحلیل شد و  $LC_{50}$ ، NOEC و غلظتی که در آن ۱۰۰٪ مرگ و میر رخ می دهد در زمانهای ۱۲ تا ۹۶ ساعت پس از تماس محاسبه گردید.

نتایج: طبق نتایج به دست آمده،  $LC_{50}$  ۴۸ ساعته  $TiO_2$  و Fe:TiO<sub>2</sub> در حالت بدون مواجهه با فنل به ترتیب ۲۷۰۵ و بیش از ۱۵۰۰۰ mg/l و در حالت تماس با فنل، به ترتیب ۴۱۴ و ۱۲۵۸ mg/l محاسبه شد. NOEC ۴۸ ساعته در مورد نانوذرات  $TiO_2$  مواجهه یافته و مواجهه نیافته با فنل به ترتیب ۴۱ و ۱۲۵۳ mg/l و در مورد Fe:TiO<sub>2</sub> به ترتیب ۷۸۹ و بیش از ۱۵۰۰۰ mg/l بدست آمد. همچنین غلظت ۱۰۰٪ مرگ و میر ۴۸ ساعته در مورد نانوذرات  $TiO_2$  مواجهه یافته و مواجهه نیافته با فنل به ترتیب بیش از ۱۰۹۰ و بیش از ۱۲۵۳ mg/l و در مورد Fe:TiO<sub>2</sub> به ترتیب بیش از ۲۱۰۸ و بیش از ۱۵۰۰۰ mg/l بدست آمد.

نتیجه گیری: با توجه به  $LC_{50}$  ۴۸ ساعته این مطالعه نشان داد که سمیت نانو Fe:TiO<sub>2</sub> و نانو  $TiO_2$  به علت مواجهه با فنل به ترتیب بیش از ۱۲ برابر و ۶/۵ برابر افزایش می یابد. اما به طور کلی با توجه به شاخص  $LC_{50}$  در حالت های مختلف می توان گفت سمیت نانو Fe:TiO<sub>2</sub> که از خواص کاتالیستی بهتری نیز برخوردار می باشد، در مقایسه با نانو  $TiO_2$  کمتر می باشد. بنابراین در کاربردهای مختلف باید استفاده از آن به جای  $TiO_2$  خالص مورد بررسی قرار گیرد زیرا این ماده خطر کمتری را برای محیط زیست در بر خواهد داشت.

واژگان کلیدی: نانوذرات، اکسیدتیتانیوم، فنل، سمیت، آزمون زیستی

### مقدمه

رفتارهای منحصر به فرد و متفاوتی دارند (Kroll et al. 2009). هر چند استفاده مفید از این رفتارهای منحصر به فرد، دلیل اصلی گسترش استفاده از این مواد است اما باید توجه کرد که همین رفتارها می تواند خطرات جدید و منحصر به فردی نیز ایجاد کند. لذا بررسی

فن آوری نانو در مورد توسعه محصولات تحقیق می کند که مواد اولیه آنها حداقل در یک بعد کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر هستند (Navarro et al. 2008). این مواد نسبت به حالت توده ای (غیرنانوذره ای)

شد ( Nowak and Bucheli 2007; Wang et al. 2008a).

از طرف دیگر، فنل در بسیاری از ترکیبات صنایع از جمله صنایع تولید رزین، رنگرزی، دترجنت ها، مواد منفجره، حشره کش ها، پلاستیک سازی و مواد خام تولیدات دارویی، به عنوان یک جزء ضروری، کاربرد دارد (EMA 2002)، از این رو در پساب بسیاری از این صنایع وجود ( Barahona and Sanchez-Fortun 1996; Paisio et al. 2009) و توانایی بالقوه زیادی در ورود به اکوسیستم های مختلف دارد؛ به طوری که در بعضی صنایع غلظت این ماده در پساب تخلیه شده به محیط به بیش از 1000 mg/l می رسد (Paisio et al. 2009). با توجه به خواص جذبی بالای نانوذرات و ورود آنها به زیست بوم های مختلف و همچنین حضور گسترده فنل در پساب صنایع، و همچنین اختلاط پساب صنایع در شهرک های صنعتی جهت انتقال و همچنین متعادل سازی فاضلابها، امکان جذب فنل بر روی نانوذرات وجود دارد.

آزمون زیستی یکی از روشهای مورد استفاده برای تعیین اثرات بالقوه مواد شیمیایی و سموم می باشد. در بین موجودات مورد استفاده برای این آزمون، دافنیا مگنا به دلیل سازگاری بالای آن در آبهای نرم، حساسیت بالا و کشت آسان گونه ای مناسب می باشد ( APHA 2005; Mahmoodi and Arami 2009; Roux et al. 1993). در بین موجودات سخت پوست، این موجود یکی از موجوداتی است که بیشترین استفاده را جهت آزمایشات سمیت حاد دارد (Adams et al. 2006). همچنین از آنجایی که این موجود یکی از اولین موجودات زنجیره غذایی در محیطهای آبی می باشد، می تواند نقش مهمی را در تجمع زیستی مواد سمی ایفا کند.

در این تحقیق فنل به عنوان یک سم تماسی قوی (Conning and Hayes 1971)، در تماس با دو نانوذره  $\text{TiO}_2$  و  $\text{Fe doped TiO}_2$  قرار داده شد تا تاثیر آن بر سمیت این نانوذرات تعیین شود.

خطرات احتمالی این مواد ضروری است. در بین مواد مصرفی در علوم نانو تکنولوژی نانو  $\text{TiO}_2$  یکی از پرکاربردترین مواد می باشد (Kahru et al. 2008; Wang et al. 2008b). این در حالی است که تحقیقات مختلفی نشان داده اند که این ماده ممکن است اثرات زیست شناختی مخربی داشته باشد (Adams et al. 2006; Sayes et al. 2006; Warheit et al. 2007). در مورد  $\text{TiO}_2$  مشخص شده است با تابش پرتوهای UV اثر فتوکاتالیتیک این ماده به طور چشم گیر بهبود می یابد و از این طریق قدرت باکتری کشی و سمیت آن برای سلول ها نیز افزایش می یابد (Gurr et al. 2005).

از طرف دیگر تحقیقات نشان می دهد که اگر اکسیدهای نانوذرات با نانوفلزات دیگری همچون آهن و مس ترکیب شوند، خواص فتوکاتالیتیک و شیمیایی آنها به میزان زیاد بهبود می یابد (Mathews et al. 2009; Wu et al. 2009). لذا به نظر می رسد کاربرد این دسته از نانوذرات نیز روند رو به گسترشی داشته باشد. به همین دلیل نیاز است این دسته از نانوذرات نیز در مقایسه با نانوذرات غیر ترکیبی از نظر خطرات احتمالی بررسی شوند تا در مورد روند گسترش این مواد و کاربردهای آنها تصمیمات درستی اتخاذ شود.

از طرف دیگر با توجه به این که نانوذرات خواص جذبی بالایی دارند، تماس آنها با سموم مختلف می تواند اهمیت زیادی داشته باشد، به طوری که تحقیقات نشان داده اند، این مواد می توانند انتقال سموم به درون سلول ها را تسهیل کنند (Moor 2006).

نانوذرات اکسیدتیتانیوم جزء نانوذرات مهم هستند که در بسیاری از کشورها در مقیاس صنعتی در حال استفاده می باشند و استفاده از آنها در حال گسترش میباشد (Heinlaan et al. 2008; Jones and Grainger 2009). استفاده رو به رشد از نانوذرات مصنوعی در جوامع انسانی بی شک منجر به آزادسازی چنین موادی به انواع محیط ها و زیست بوم ها خواهد

## روش کار

مورد نانو  $\text{Fe doped TiO}_2$ ، 12 غلظت در محدوده 500 تا  $2200 \text{ mg/l}$  استفاده شد.

آزمایش سمیت: آماده سازی و پرورش دافنیا مگنا براساس استاندارد شماره ۸۷۱۱ از روش های استاندارد آزمایشات آب و فاضلاب انجام شد (APHA 2005). پس از تهیه محلول های آزمایش، نوزادانی که طی ۲۴ ساعت گذشته و در دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتیگراد از کیسه های مادری آزاد شدند، در هر ظرف به یک تعداد (حداقل ۱۰ عدد) تلقیح شدند (APHA 2005). از یک پیپت شیشه ای ۱۰ میلی لیتری جهت جمع آوری و انتقال دافنی ها استفاده شد. جهت تعیین سمیت حاد با استفاده از دافنیا مواجهه ۴۸ ساعته یک مدت زمان قابل قبول است (Mahmoodi and Arami 2009). اما در این تحقیق جهت بررسی اثر زمان مواجهه ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعته مورد بررسی قرار گرفت. بعد از تماس دافنی ها با غلظت های مورد نظر، دافنی های غیرمتحرک به عنوان دافنی های مرده شمارش شدند. گفتنی است موجوداتی بدون حرکت در نظر گرفته می شدند که حتی پس از تحریک به وسیله پیپت نیز هیچ تحرکی نداشتند.

چون نانوذرات قابلیت ته نشینی دارند، جهت ایجاد تماس بیشتر این مواد با دافنیا، هر ۸ ساعت یک بار، نانوذرات ته نشین شده، با ایجاد اختلاط، دوباره به حالت تعلیق درآورده می شدند.

در آزمون های زیستی با استفاده از دافنیا حداقل تکرار هر تست (برای یک غلظت مشخص) سه بار است و مرگ و میر در نمونه شاهد نباید بیش از ۱۰٪ باشد (APHA 2005) که این مساله در این پژوهش مورد توجه قرار گرفت.

روش تجزیه و تحلیل نتایج: آزمایش میزان مرگ مربوط به هر غلظت سه بار تکرار شد. میانگین هر سه تکرار، تعیین شد. جهت تعیین ارتباط بین میزان سمیت و غلظت، ضریب همبستگی پیرسن با استفاده از نرم افزار SPSS 16.0 تعیین شد. میانگین هر سه بار آزمایش توسط مدل پروبیت در نرم افزار SPSS 16 تحلیل گردید و  $\text{LC}_{50}$  نانوذرات

نانوذرات: نانوذرات  $\text{TiO}_2$  و  $\text{Fe doped TiO}_2$  از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی تهیه شد، قطر این ذرات ۴۰ تا ۵۰ نانومتر بود. محلول استوک (۱۰ گرم در لیتر) به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک (Bandelin Sonorex RK 31H) در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت.

جهت تهیه نانوذرات تماس یافته با فنل، مخلوط فنل و نانوذرات که حاوی  $10 \text{ g/l}$  از نانوذره مورد نظر بود به مدت ۷۲ ساعت در بالن ژوژه درب بسته به صورت batch و به وسیله همزن مگنتی (IKA RCT basic 7 mot) به هم زده شد. بعد از این مدت میزان فنل باقیمانده محلول توسط دستگاه اسپکترومتر (Perkin Elmer-lambda 25-UV/VIS spectrometer) اندازه گیری شد. از طریق مقایسه غلظت فنل در قبل و بعد از تماس، میزان جذب فنل بر هر گرم از نانوذره محاسبه شد.

جهت حذف فنل جذب نشده، مخلوط نانوذرات و فنل توسط دستگاه سانتریفیوژ (Hettich universal centrifuge) به مدت ۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و محلول زلال اضافی سرریز شد. نانوذرات و فنل باقیمانده در هر Vial توسط آب دیونیزه شده (تولید شده توسط دستگاه Fistream WSC900.RTB.9) رقیق شد و دوباره سانتریفیوژ شد. این عمل تا زمانی تکرار شد، که غلظت فنل نمونه در محیط کشت هر تست به ۰/۱ میلی گرم در لیتر رسید. به همین دلیل در نمونه های شاهد نیز همین مقدار از فنل اضافه شد ولی تاثیری در مرگ و میر دافنیا نداشت.

در این بررسی ابتدا به عنوان پیش تست، مرگ و میر در غلظت های ۰/۵، ۵، ۵۰، ۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ از هر نانوذره مورد آزمایش قرار گرفت تا محدوده سمیت مشخص شود. در تعیین  $\text{LC}_{50}$  حداقل ۵ غلظت از محلول مورد نظر نیاز است (APHA 2005). جهت افزایش دقت، مرگ و میر ناشی از نانوذرات  $\text{TiO}_2$  در ۹ غلظت در محدوده ۵۰ تا  $8000 \text{ mg/l}$  آزمایش شد. در

مقادیر حاصل از ارزیابی NOEC و ۱۰۰٪ مرگ و میر در ارتباط با نانوذرات  $\text{TiO}_2$  و  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  در حالت تماس یافته و بدون تماس با فنل در زمانهای ۱۲ تا ۹۶ ساعت پس از مواجهه در جداول ۲ و ۳ ارائه شده است. با توجه به اطلاعات جدول ۳، مقادیر NOEC و ۱۰۰٪ مرگ و میر نانوذرات  $\text{TiO}_2$  در حالت تماس یافته و بدون تماس با فنل از زمان ۱۲ تا ۹۶ ساعت یک روند نزولی را دنبال می کند که این امر در مورد نانوذرات  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  تماس یافته با فنل نیز صادق است (جدول ۴). NOEC نانوذرات  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  در حالت بدون تماس با فنل نیز در کلیه زمان های مورد مطالعه بیش از  $15000 \text{ mg/l}$  تعیین شد.

نتایج حاصل از مقایسه  $\text{LC}_{50}$  نانوذرات مورد مطالعه در زمانهای مختلف با استفاده از آزمون نشان داد که در مورد نانوذرات  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  تماس یافته با فنل بین  $\text{LC}_{50}$  ۱۲ ساعته و ۲۴ ساعته اختلاف معنی داری وجود دارد ( $p < 0/05$ ). اما پس از گذشت ۲۴ ساعت تغییرات  $\text{LC}_{50}$  به لحاظ آماری معنی دار نمی باشد.

در مورد نانوذرات  $\text{TiO}_2$  تماس یافته و تماس نیافته با فنل نیز آزمون آماری نشان داد که تفاوت بین  $\text{LC}_{50}$  ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعته معنی دار می باشد ( $p < 0/05$ ) اما پس از گذشت ۴۸ ساعت تغییرات  $\text{LC}_{50}$  به لحاظ آماری معنی دار نمی باشد.

## بحث

نانوذرات بدون تماس با فنل: همانطور که در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است، سمیت  $\text{TiO}_2$  خالص بسیار بیشتر از  $\text{Fe doped TiO}_2$  می باشد به طوری که  $\text{LC}_{50}$  ۴۸ ساعته در مورد نانوذرات  $\text{TiO}_2$  خالص از ۲۷۰۵ به بیش از  $\text{mg/l}$  ۱۵۰۰۰ در مورد نانوذرات  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  رسیده است.

این نتایج نشان می دهند که هرچند  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  خواص فتوکاتالیتیک بالایی دارد اما در حضور نور طبیعی اتاق (۱۰ ساعت روشنائی و ۱۴ ساعت تاریکی) خواص سمی بسیار کمتری دارد. از این رو پیشنهاد می شود در کاربردهای  $\text{TiO}_2$  که در آن امواج UV به عنوان تحریک

مورد مطالعه تعیین شد. همچنین غلظت بدون مرگ و میر (NOEC) و ۱۰۰٪ مرگ و میر به ترتیب از طریق محاسبه غلظتی که در آن مرگ و میر ۱۰٪ و بیش از ۹۹٪ بود تعیین شد. معنی دار بودن تفاوت  $\text{LC}_{50}$  در حالت های مختلف (حالت مواجهه یافته با فنل و بدون مواجهه با فنل) نیز با حدود اطمینان ۹۵٪ با استفاده از آزمون  $t$ -test مورد بررسی قرار گرفت. جهت رسم نمودارهای دوز-پاسخ نیز از Microsoft Excel 2007 استفاده شد.

## نتایج

نتایج حاصل از بررسی  $\text{LC}_{50}$  نانوذرات  $\text{TiO}_2$  تماس یافته و بدون تماس با فنل با استفاده از دافنیا مگنا در زمانهای ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تماس با نانوذرات در جدول ۱ ارائه شده است. چنانکه اطلاعات این جدول نشان می دهد، و همانگونه که در شکل های ۱ تا ۳ پیداست،  $\text{LC}_{50}$  نانوذرات تماس یافته و بدون تماس با فنل در طول زمان سیر نزولی دارد. در مورد نانوذرات  $\text{TiO}_2$  بدون تماس با فنل  $\text{LC}_{50}$  ۱۲ ساعته برابر با  $1838 \text{ mg/l}$  می باشد و  $\text{LC}_{50}$  ۹۶ ساعته به  $1838 \text{ mg/l}$  کاهش یافته است. در مورد نانوذرات  $\text{TiO}_2$  تماس یافته با فنل نیز همین سیر نزولی وجود دارد و  $\text{LC}_{50}$  ۱۲ ساعته برابر با  $1387 \text{ mg/l}$  می باشد و  $\text{LC}_{50}$  ۹۶ ساعته با  $330 \text{ mg/l}$  کاهش یافته است.

نتایج حاصل از بررسی  $\text{LC}_{50}$  نانوذرات  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  تماس یافته و بدون تماس با فنل در زمانهای ۱۲ تا ۹۶ ساعت در جدول ۲ ارائه شده است. بر اساس اطلاعات این جدول،  $\text{LC}_{50}$  از روندی که در مورد نانو  $\text{TiO}_2$  ذکر شد پیروی می کند. به نحوی که  $\text{LC}_{50}$  ۱۲ ساعته این نانوذرات  $1628 \text{ mg/l}$  و  $\text{LC}_{50}$  ۹۶ ساعته  $1211 \text{ mg/l}$  می باشد.  $\text{LC}_{50}$  نانوذرات  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  در حالت بدون تماس با فنل نیز در کلیه زمان ها بیش از  $15000 \text{ mg/l}$  به دست آمد.

افزایش سمیت درمورد  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  بیش از  $\text{TiO}_2$  خالص است. به طوری که با مقایسه  $\text{LC}_{50}$  های ۴۸ ساعته درمی یابیم پس از تماس با فنل سمیت  $\text{TiO}_2$  ۶/۵ برابر و سمیت  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  ۱۲ برابر افزایش یافته است. از آنجا که در تماس این نانومواد با فنل مشخص شد که قدرت جذب  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  نزدیک به ۸۰٪ بیشتر از  $\text{TiO}_2$  خالص بود، انتظار می رود که علت افزایش بیشتر سمیت  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  در مقایسه با  $\text{TiO}_2$ ، جذب بیشتر فنل باشد.

اثر زمان: آزمون های آماری نشان داد سمیت  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  تماس یافته با فنل تا ۲۴ ساعت به شدت وابسته به زمان می باشد؛ این وابستگی در نمودار دوز-پاسخ ۳ با ایجاد فاصله بیشتر بین نمودارهای ۱۲ و ۲۴ ساعته نسبت به فاصله با سایر نمودارها نیز قابل تشخیص است. به طوری که سمیت پس از گذشت ۱۲ ساعت ۱/۲۲ برابر شده است و تفاوت این دو  $\text{LC}_{50}$  (۱۲ ساعته و ۲۴ ساعته) از لحاظ آماری معنی دار می باشد. اما پس از ۲۴ ساعت با گذشت زمان تغییر زیادی در سمیت دیده نمی شود، و این تغییر سمیت از لحاظ آماری معنی دار نیست. در مورد  $\text{TiO}_2$  تماس یافته و بدون تماس با فنل، سمیت تا زمان ۴۸ ساعت وابسته به زمان می باشد و پس از گذشت ۴۸ ساعت تغییر معنی داری دیده نمی شود (نمودارهای ۱ و ۲).

طبق مطالعات گذشته، نانوذرات  $\text{TiO}_2$  در اثر اختلاط و برخورد با یکدیگر خاصیت تجمع پذیری دارند و قطر آنها با این مکانیسم افزایش می یابد (Navarro et al. 2008; Baveye and Laba 2008). از طرف دیگر ممکن است قطر نانوذرات در میزان ورود آنها به سلول ها و در نتیجه سمیت آنها تاثیر داشته باشد (Baveye and Laba 2008). بنابراین ممکن است کاهش تفاوت سمیت مشاهده شده در دوره های بعد از ۲۴ ساعت و یا ۴۸ ساعت، به دلیل افزایش قطر ناشی از اختلاط و برخورد ذرات به یکدیگر باشد.

کننده خواص فتوکاتالیتیک به کار نمی رود، حالت ترکیبی این نانوذره با آهن نیز مورد بررسی قرار گیرد تا در صورت امکان از حالت ترکیبی آن با آهن استفاده شود.

بررسی اثر یون ها: مشخص شده است که سمیت اکسیدهای فلزی نانوذرات با میزان آزادسازی یون فلزی از سطح آنها رابطه مستقیم دارد. از آنجایی که افزودن  $\text{Fe}$  به  $\text{TiO}_2$  باعث افزایش سطح نانوذرات آن می شود، انتظار می رود میزان آزادسازی یونها نیز افزایش یافته و سمیت آن بالاتر رود، اما نتایج حاصل از این پژوهش عکس این مطلب را ثابت کرد. علت این امر می تواند این مساله باشد که نانوذرات  $\text{TiO}_2$  در محیط های آبی یون  $\text{Ti}^{4+}$  آزاد می کنند، در حالی که فیلم های 4% Fe doped  $\text{TiO}_2$  دو گونه از اتم های  $\text{Ti}$  را آزاد می کنند که یکی از آنها اتم های  $\text{Ti}$  پایدار (Unperturbed) و دیگری اتم های با بار سطحی منفی می باشند (Mathews et al. 2009). از این رو می توان گفت که در غلظت های مساوی از نانوذرات  $\text{TiO}_2$  خالص و  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$ ، میزان سمیت یون های فلزی آزاد شده از  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  (دوگانه اتم) در حدی است که سمیت کمتری نسبت به یون  $\text{Ti}^{4+}$  آزاد شده از  $\text{TiO}_2$  ایجاد می کند. لذا تعیین اثر هر یک از فاکتورهای غلظت و سمیت درمورد یون های مختلف آزاد شده از  $\text{TiO}_2$  خالص و  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  تحقیقات بیشتری را طلب می کند.

نانوذرات تماس یافته با فنل :  $\text{LC}_{50}$  ۴۸ ساعته نانوذرات  $\text{TiO}_2$  بدون تماس با فنل 2705 mg/l و  $\text{LC}_{50}$  ۴۸ ساعته نانوذرات  $\text{TiO}_2$  تماس یافته با فنل ۴۱۴ mg/l بدست آمد که نشان دهنده ۶/۵ برابر افزایش سمیت به دلیل مواجهه با فنل می باشد. درمورد نانوذرات  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$   $\text{LC}_{50}$  ۴۸ ساعته از بیش از ۱۵۰۰۰ mg/l قبل از مواجهه با فنل به 1258 mg/l بعد از مواجهه با فنل رسید که نشان دهنده بیش از ۱۲ برابر افزایش در سمیت به دلیل مواجهه با فنل می باشد. به طور کلی این نتایج نشان می دهند که در اثر تماس با فنل سمیت نانوذرات  $\text{TiO}_2$  و  $\text{Fe}:\text{TiO}_2$  افزایش می یابد، اما

## نتیجه گیری

سطح سمیت آن کمتر می باشد. از این رو پیشنهاد می شود در کاربردهای  $TiO_2$  که در آن امواج UV به عنوان تحریک کننده خواص فتوکاتالیتیک به کار نمی رود، به عنوان جایگزین استفاده از  $Fe:TiO_2$  مورد بررسی قرار گیرد تا در صورت دفع نانوذرات به محیط زیست آثار مخرب کمتری داشته باشد

به طور کلی با توجه به نتایج این پژوهش می توان گفت که هرچند میزان سمیت نانوذرات  $Fe:TiO_2$  در مواجهه با فنل به شدت تحت تاثیر قرار گرفته و درجه تغییرات سمیت آن بیش از درجه تغییرات سمیت نانوذرات  $TiO_2$  در اثر مواجهه با فنل می باشد اما در کل

جدول ۱-  $LC_{50}$  نانوذرات  $TiO_2$  تماس یافته و بدون تماس با فنل در زمانهای مختلف (mg/l) با فاصله اطمینان ۹۵٪ با استفاده از دافنیا مگنا

نانوذرات		نانو $TiO_2$		نانو $TiO_2$ مواجهه یافته با فنل		زمان (ساعت)
حدود اطمینان ۹۵٪		حدود اطمینان ۹۵٪		حدود اطمینان ۹۵٪		
حد بالا	حد پایین	حد بالا	حد پایین	حد بالا	حد پایین	
۱۷۸۰	۱۰۹۳	۱۳۸۷	۶۹۴۵	۵۴۳۵	۶۱۰۶	۱۲
۱۰۳۲	۵۷۱	۷۸۱	۴۳۸۶	۲۷۴۰۲۲۲۲	۳۴۷۸	۲۴
۴۵۸	۳۷۱	۴۱۴	۳۳۴۸	۲۱۹۶	۲۷۰۵	۴۸
۳۹۵	۳۱۶	۳۵۵	۲۹۰۹	۱۲۹۶	۲۵۱۵	۷۲
۳۶۷	۲۹۴	۳۳۰	۲۶۴۸		۱۸۳۸	۹۶

جدول ۲-  $LC_{50}$  نانوذرات  $Fe-doped TiO_2$  تماس یافته و بدون تماس با فنل در زمانهای مختلف (mg/l) با فاصله اطمینان ۹۵٪ با استفاده از دافنیا مگنا

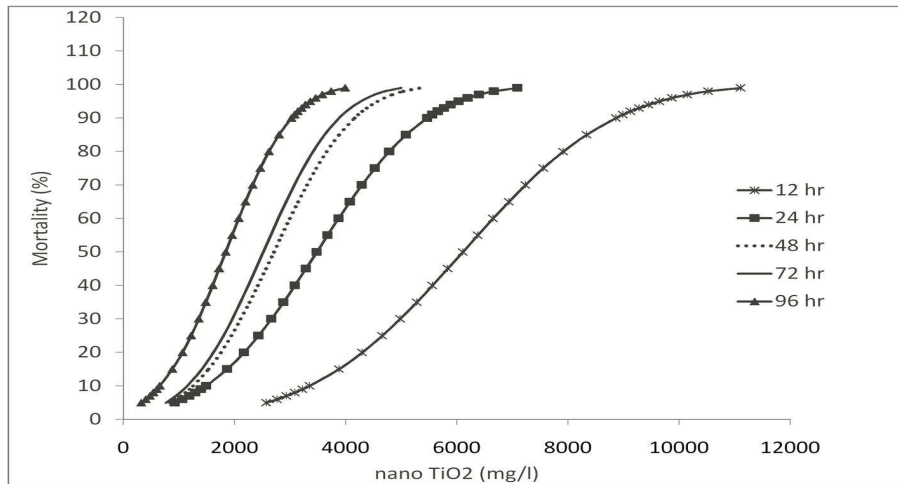
نانوذرات		نانو $Fe-doped TiO_2$		نانو $Fe-doped TiO_2$ مواجهه یافته با فنل		زمان (ساعت)
حدود اطمینان ۹۵٪		حدود اطمینان ۹۵٪		حدود اطمینان ۹۵٪		
حد بالا	حد پایین	حد بالا	حد پایین	حد بالا	حد پایین	
				۱۶۸۷	۱۵۶۹	۱۲
				۱۳۷۰	۱۲۹۱	۲۴
				۱۲۹۵	۱۲۲۱	۴۸
				۱۲۷۷	۱۲۰۴	۷۲
				۱۲۴۸	۱۱۷۵	۹۶

جدول ۳- مقادیر NOEC و ۱۰۰٪ مرگ و میر دافنیا مگنا در اثر مواجهه با نانوذرات TiO<sub>2</sub> تماس یافته و بدون تماس با فنل در زمانهای مختلف (mg/l)

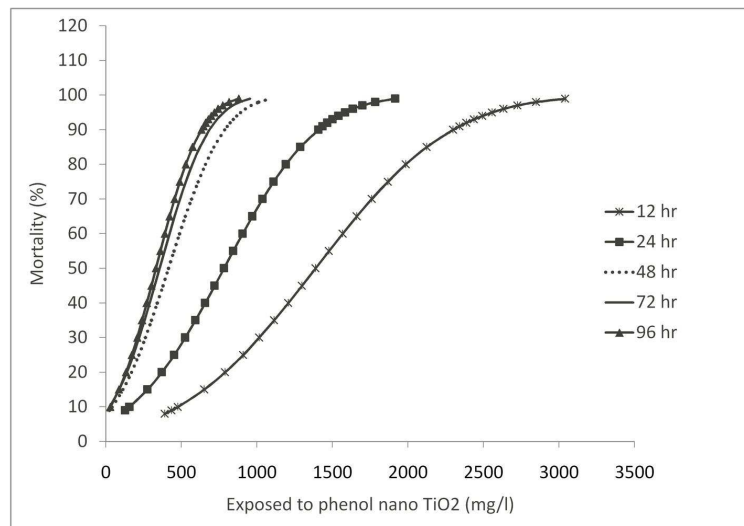
نانو TiO <sub>2</sub> مواجهه یافته با فنل		نانو TiO <sub>2</sub>		نانوذرات
				زمان (ساعت)
(mg/l) ۱۰۰٪ مرگ	NOEC (mg/l)	(mg/l) ۱۰۰٪ مرگ	NOEC (mg/l)	
>۳۰۴۱	۴۷۶	>۱۱۱۰۸	۳۳۵۱	۱۲
>۱۹۱۶	۱۵۶	>۷۰۹۰	۱۴۸۸	۲۴
>۱۰۹۰	۴۱	>۵۳۴۲	۱۲۵۳	۴۸
>۹۵۴	۲۵	>۴۹۹۳	۱۱۵۰	۷۲
>۸۷۸	۲۵	>۳۹۹۰	۶۵۳	۹۶

جدول ۴ - مقادیر NOEC و ۱۰۰٪ مرگ و میر دافنیا مگنا در اثر مواجهه با نانوذرات Fe-doped TiO<sub>2</sub> تماس یافته و بدون تماس با فنل در زمانهای مختلف (mg/l)

نانو TiO <sub>2</sub> مواجهه یافته با فنل		نانو TiO <sub>2</sub>		نانوذرات
				زمان (ساعت)
(mg/l) ۱۰۰٪ مرگ	NOEC (mg/l)	(mg/l) ۱۰۰٪ مرگ	NOEC (mg/l)	
>۲۴۶۴	۱۱۶۸	-	>۱۵۰۰۰	۱۲
>۲۲۶۹	۸۱۳	-	>۱۵۰۰۰	۲۴
>۲۱۰۸	۷۸۹	-	>۱۵۰۰۰	۴۸
>۲۰۹۹	۷۶۶	-	>۱۵۰۰۰	۷۲
>۲۰۷۲	۷۳۶	-	>۱۵۰۰۰	۹۶

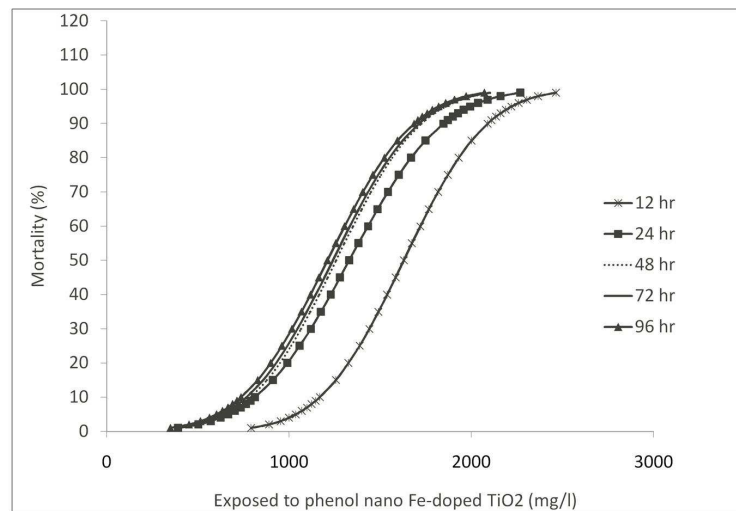


شکل ۱- نمودار دوز-پاسخ *Daphnia magna* به غلظت های مختلف نانوذرات TiO<sub>2</sub>



شکل ۲- نمودار دوز-پاسخ *Daphnia magna* به غلظت های مختلف نانوذرات TiO<sub>2</sub> مواجهه یافته با فنل





شکل ۳ - نمودار دوز-پاسخ دافنیا مگنا به غلظت های مختلف نانوذرات Fe-doped TiO<sub>2</sub> مواجهه یافته با فنل

## References

- Adams, L.K., Lyon, D.Y. and Alvarez, P.J.J., 2006. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, and ZnO water suspensions. *Water Research*, **40**(19), pp.3527-3532.
- 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.
- Barahona, M.V. and Sanchez-Fortun, S., 1996. Comparative sensitivity of three age classes of artemia salina larvae to several phenolic compounds. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **56**(2), pp.271-278.
- Baveye, P. and Laba, M., 2008. Aggregation and toxicology of titanium dioxide nanoparticles. *Environ Health Perspectives*, **116**(4), pp.A152.
- Conning, D.M. and Hayes, M.J., 1971. The dermal toxicity of phenol: An investigation of the most effective first-aid measures, *British Medical Journal*, **27**(2), pp.155-159.
- EMA (Environment Management Act), 2002. Ambient working water quality guidelines phenols, Prepared pursuant to Section 2(e), Summary Report, water, air and climate change branch, Ministry of water, land and air protection.
- Gurr, J.R., Wang, A.S.S., Chen, C.H. and Jan, K.Y., 2005. Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells. *Toxicology*, **213**(1-2), pp.66-73.
- Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., Dubourguier, H.C. and Kahru, A., 2008. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*, **71**(7), pp.1308-1316.
- Jones, CF. and Grainger, D.W., 2009. In vitro assessments of nanomaterial toxicity. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **61**(6), pp.438-456.

- Kahru, A. Dubourguier, H.C., Blinova, I., Ivask, A., and Kasemets, K., 2008. Biotests and Biosensors for Ecotoxicology of Metal Oxide Nanoparticles: A Minireview. *Sensors*, **8**(8), pp.5153-5170.
- Kroll, A., Pillukat, M.H., Hahn, D. and Schneckeburger, J., 2009. Current in vitro methods in nanoparticle risk assessment: Limitations and challenges. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **72**(2), pp.370-377 .
- Mahmoodi, N.M. and Arami, M., 2009. Degradation and toxicity reduction of textile wastewater using immobilized titania nanophotocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **94**(1), pp.20-24.
- Mathews, N.R., Corte, J.M.A., Morales, E.R. and Toledo, A.J.A., 2009. Structural and spectroscopic study of the Fe doped TiO<sub>2</sub> thin films for applications in photocatalysis. *Physica Status Solidi*. **6**(s1), pp.S219–S223.
- Moore, M.N., 2006. Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environment International*, **32**(8), pp.967-976.
- Navarro, E., Baun, A., Behra, R., Hartmann, N., Filser, J. and Miao, A.J., 2008. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology*, **17**(5), pp.372-386.
- Nowack, B. and Bucheli. TD., 2007. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution*, **150**(1), pp. 5-22.
- Paisio, C.E., Agostini, E., Gonzalez, P.S. and Bertuzzi, M.L., 2009. Lethal and teratogenic effects of phenol on Bufo arenarum embryos. *Journal of Hazardous Materials*, **167**(1-3), pp.64-68.
- Roux, D.J., Kempster, P.L. and Truter, E., 1993. Effect of cadmium and copper on survival and reproduction of Daphnia pulex. *Water SA*, **19**(4), pp269-274.
- Sayes, C.M., Wahi, R., Kurian, P.A., Liu, Y.P., West, J.L. and Ausman, K.D., 2006. Correlating nanoscale titania structure with toxicity: a cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells. *Toxicology Science*. **92**, pp.174-85.
- Wang, J., Zhang, X., Chen, Y., Sommerfeld, M., and Hu, Q., 2008a. Toxicity assessment of manufactured nanomaterials using the unicellular green alga Chlamydomonas reinhardtii. *Chemosphere*, **73**(7), pp.1121-1128.
- Wang, X., Lu, J., Xu, M. and Xing, B., 2008b. Sorption of Pyrene by regular and nanoscaled metal oxide particles: influence of adsorbed organic matter. *Environmental Science and Technology*, **42**(19), pp.7267-7272.
- Warheit, D.B., Hoke, R.A., Finlay, C., Donner, E.M., Reed, K.L. and Sayes, C.M., 2007. Development of a base set of toxicity tests using ultrafine TiO<sub>2</sub> particles as a component of nanoparticle risk management. *Toxicology Letters*, **171**(3), pp.99-110.
- Wu, B., Huang, R., Sahu, M., Feng, X., Biswas, P.J. and Tang, Y., 2009. Bacterial responses to Cu-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Science of the Total Environment*. doi:10.1016/j. scitotenv.2009.11.004.

## Effect of phenol in aqueous solutions on toxicity of nano-TiO<sub>2</sub> and nano-Fe/TiO<sub>2</sub> particles

**Zare M.R., MS.c.** Student, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Naddafi K., Ph.D.** Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran- Corresponding author: [knadafi@tums.ac.ir](mailto:knadafi@tums.ac.ir)

Received: Jan 9, 2010

Accepted: Dec 21, 2010

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Specific and unique characteristics of nanoparticles may entail specific and unique hazards. In addition, they may also exhibit toxicity under certain conditions. This study was conducted to investigate the toxicity of phenol-exposed and phenol-unexposed nano-TiO<sub>2</sub> and nano-Fe/TiO<sub>2</sub> particles.

**Materials and Methods:** Stock solutions of the afore-mentioned nanoparticles were prepared at different concentrations and a sample of each was exposed to phenol. This was followed by exposing *Daphnia Magna* to the phenol- and non-phenol-exposed nanoparticles. LC<sub>50</sub>, NOEC and the concentrations at which mortality rates were 100% were determined 12 to 96 hours after exposure, while for the determination of the mortality rate of *Daphnia* the Probit model in SPSS version 16 software was used.

**Results:** The results revealed that (1). The 48-hr LC<sub>50</sub> values for phenol-unexposed nano-TiO<sub>2</sub> and nano-Fe/TiO<sub>2</sub> particles were 2705 and over 15000 mg/m<sup>3</sup>, respectively. The corresponding values for the phenol-exposed samples were 414 and 1253. (2). The 48-hr NOEC values for the phenol-exposed TiO<sub>2</sub> and FeTiO<sub>2</sub> were 41 and 789, respectively, the corresponding values for unexposed samples being 1253 and over 15000 mg/m<sup>3</sup>. (3). In addition, the 48-hr 100% mortality rates for phenol-unexposed nano-TiO<sub>2</sub> and nano-Fe/TiO<sub>2</sub> particles were, respectively, 1253 and over 15000 mg/m<sup>3</sup>, while for the phenol-exposed samples the corresponding rates were 1090 and over 2108.

**Conclusion:** With regard to 48-hr LC<sub>50</sub>, the findings show that the toxicity of both nano-Fe:TiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub> increases as a result of exposure to phenol, the increase being 12-fold for the former and 6.5-fold for the latter. In general, however, based on LC<sub>50</sub>, it can be said that the toxicity of Fe:TiO<sub>2</sub> nanoparticles, which has better catalytic characteristics, is lower in comparison to TiO<sub>2</sub> nanoparticles. Thus, using Fe:TiO<sub>2</sub> in preference to pure TiO<sub>2</sub> should be investigated further, as it will be less hazardous to the environment.

**Key words:** Nonoparticles, Titanium Oxide, Phenol, Toxicity, Bioassay