

اثرات نانوذرات بر ریزجانداران خاکری

معصومه مهدی زاده* و نصرت الله نجفی

دانشکده کشاورزی، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تبریز

چکیده

نانوذرات به عنوان پایه و اساس فناوری نانو در زمینه کشاورزی به ویژه علوم خاک سهم به سزایی داشته است. نانوذرات به خاطر ویژگی های خاصشان، به طور گسترده در محصولات استفاده می شوند اما شواهد کافی وجود دارد که آن ها اثرهای سمی بر ریزجانداران خاکری می شوند. جذب سلولی این ذرات ممکن است، با تولید گونه های فعال اکسیژن باعث ایجاد سمیت سلولی شود، به این دلیل ارزیابی خطرات زیست محیطی نانوذرات در طول چرخه عمر نانوذرات امری لازم و ضروری می باشد. مطالعه برهمکنش بین نانوذرات و محیط خاک برای درک برهمکنش های موجود بسیار حائز اهمیت است. مطالعات اخیر موجود در ارتباط با منابع ورود نانوذرات فلزی در خاک و واکنش پذیری نانوذرات و اثر سمیت نانوذرات مهندسی شده بر ریزجانداران خاکری در این بررسی بیان شده است. لازم به ذکر است با توجه به اینکه در مطالعه تأثیرات سمیت نانوذرات بر ریزجانداران خاکری جنبه های مختلفی بررسی شده است. برقراری یک ارتباط بین مطالعات موجود بسیار دشوار است.

واژه های کلیدی: نانو، سمیت، نانوذرات، ریزجانداران خاکری.

ایمیل نویسنده مسئول: m_mahdizadeh20@yahoo.com

۱- مقدمه

انتظار می رود انتشار نانومواد مهندسی شده در محیط زیست را نیز افزایش دهد [۳]. این افزایش باعث نگرانی شده است زیرا عمدتاً برخی آزمایش ها اثر سمیت نانوذرات را به دلیل خواص ویژه آنها نشان داده اند [۴]. مهم ترین نکته که در این زمینه بایستی مورد توجه قرار گیرد ارزیابی چرخه حیات نانوذرات پس از تولید از نظر سازوکار ورود و مسیرهای چرخش آن در محیط زیست و اثرهای سمی در زیست بوم می باشد [۵]. برجسته ترین فرآیندهای تأثیرگذار در انتقال و سرنوشت نانوذرات در محیط شامل رسوب، تجمع، تجزیه، انتقال شیمیایی، اکسایش، پوشش سطحی و واکنش با مواد آلی و کلئیدها می باشد [۶]. مطالعات اخیر نشان می دهد که میزان انتشار و ورود نانوذرات در محیط-زیست سالانه حدود ۸۳۰۰ تن در سراسر جهان می باشد [۷]. بررسی ها نشان داده اند که نانوذرات مهندسی شده می توانند ریزجانداران خاکری را مسموم نمایند [۸]، اما بیش تر این بررسی ها در غلظت های بالاتر نانوذرات و در آزمایش های مربوط به محیط خاک مصنوعی یا محیط های کشت بدون خاک انجام شده است و مطالعات کمی در مورد انتقال یا بررسی سمیت نانوذرات در خاک های طبیعی انجام شده است. سمیت واقعی نانوذرات مهندسی شده در خاک بستگی به زیست فراهمی نانوذره به ریزجانداران خاکری دارد [۹]. غلظت زیست فراهم نانوذرات اغلب از غلظت کل نانوذرات در خاک هایی که در آن از سطوح واکنش پذیری بالایی برخوردار هستند، کم است. ویژگی های خاک، زیست فراهمی و تحرک نانوذرات مهندسی شده در خاک ها را تعیین می کند. اثر سمیت در مورد نانوذرات مختلف آزمایش شده است و سازوکار عمل آن ها از جنبه های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. علاوه بر

سازمان توسعه ملی فناوری نانو (NNI)^۱ آمریکا، فناوری نانو را به عنوان شناسایی و کنترل مواد در ابعاد بین حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر تعریف می کند که در آن پدیده های منحصر به فرد کاربردهای جدیدی را ممکن می سازند [۱]. بنابراین، معنای نانوفناوری، ساختن اشیا و وسایل مفید در سطح 10^{-6} متر می باشد. ذرات حداقل با یک بعد کمتر از ۱۰۰ نانومتر از مواد غیرنانو در ویژگی های فیزیکی و شیمیایی مانند سطح ویژه و چگالی بار تفاوت دارند [۲].

فناوری نانو سبب افزایش امیدها برای غلبه بر معضلات پیش روی بخش کشاورزی به ویژه علوم خاک شده است. بسیاری از دولت ها بودجه زیادی را صرف پژوهش در زمینه فناوری نانو می کنند اما به طور همزمان، پژوهشگران و افراد جامعه، نگرانی خود را در مورد اثرهای زیست محیطی و سمی بودن محصولات نانومحور ابراز کرده اند. در حال حاضر، مطالعات در زمینه سمیت نانوذرات، در حال گسترش است و بسیاری از پژوهشگران بر این باورند که سمیت نانوذرات، باید قبل از به کارگیری آن ها در مقیاس وسیع، مورد توجه قرار گیرد.

اطلاعات اندکی راجع به تأثیر نانوذرات بر سلامت محیط زیست به خصوص ریزجانداران خاکری وجود دارد.

تولید نانومواد مهندسی شده (ENMS) به طور پیوسته با توجه به خواص جدید و مفید افزایش یافته است. این افزایش تولید

¹ National Nanotechnology Initiative

این، تفاوت روش‌های تولید نانوذرات، مقایسه بین مطالعات سم‌شناسی را دشوار کرده است. اخیراً یک نظریه ارائه شده است که توجه پژوهشگران را به مطالعه واکنش‌های نانوذرات در خاک جلب کرده است. اثرهای نانوذرات بر ترکیب خاک، ریزجانداران خاک، میکروب‌ها، و واکنش آن‌ها با آلاینده‌های خاک می‌تواند برخی آسیب‌های غیرمنتظره را نمایان سازد [۱۰]. آژانس حفاظت محیط‌زیست آمریکا (USEPA)^۲ در حال مطالعه و کاربرد نانومواد تحت قانون کنترل مواد سمی (TSCA)^۳ است. این آژانس شماری از مواد در مقیاس نانو نظیر نانولوله‌های کربن تک‌جداره و چندجداره، نانوذرات آلومینیم و سیلیکا را تحت قانون TSCA مورد بررسی قرار داده است.

USEPA همچنین در حال توسعه قانونی به نام کاربرد جدید و قابل ملاحظه (SNUR)^۴ برای اطمینان از بررسی مواد در مقیاس نانومواد می‌باشد. تولیدکنندگانی که هدفشان ساخت نانومواد موجود در لیست TSCA می‌باشند، باید حداقل ۹۰ روز قبل از تولید مجوز بگیرند. در «قانون جمع‌آوری اطلاعات» تولیدکنندگان مواد در مقیاس نانو، بایستی اطلاعاتی راجع به میزان تولید، روش ساخت، ایمنی و سلامتی محصول ارائه نمایند. این مقاله به بررسی اثرهای سمی نانوذرات بر ریزجانداران خاکری پرداخته است.

۲- منابع ورود نانوذرات فلزی به خاک

نانوذرات فلزی و اکسید فلزی در بسیاری از محصولات مصرفی مثل کرم‌های ضدآفتاب و لوازم آرایشی و بهداشتی (اکسیدروی و تیتانیم دی‌اکسید)، مواد پاک‌کننده و ضدباکتریایی (نقره) [۱۱]، رنگ (تیتانیم دی‌اکسید و نقره) [۱۲]، جوهر چاپگرها (نقره، طلا) [۱۳] و منسوجات پارچه (نقره) [۱۱] و غیره استفاده می‌شود. با توجه به تنوع کاربردهای نانوفناوری، نانوذرات ممکن است از مسیرهای متنوع از جمله استفاده از نانوذرات در اصلاح آلودگی‌های آب، خاک و کودها وارد محیط‌زیست شوند [۱۴]. منبع اصلی ورود نانوذرات به خاک از طریق کارخانه‌های تصفیه فاضلاب^۵ و لجن فاضلاب است [۱۵]؛ برای مثال استفاده از لجن فاضلاب می‌تواند به ورود ۱ میکروگرم بر کیلوگرم مکعب نانوذرات نقره و ۱۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم مکعب نانوذرات تیتانیم دی‌اکسید به زمین‌های کشاورزی در هر سال منجر شود [۱۵]. همچنین بخش قابل توجهی از نانوذرات اکسیدفلزی ممکن است هنگام استفاده از جامدات زیستی^۶ وارد محیط خاک شوند [۱۶]. جامدات زیستی، محصولات نهایی فرآیند تصفیه فاضلاب بوده و غنی از مواد آلی و عناصر غذایی پرمصرف [۱۷] و همچنین حاوی آلاینده‌های فلزات کم‌مقدار می‌باشند [۱۸]. سطح واکنش‌پذیر نانوذرات اکسید فلزی ترکیبی از یون‌های فلزی و گروه‌های عاملی بوده که بسته به فعالیت H^+ در محلول احاطه کننده،

پروتون‌گیری یا پروتون‌زدایی می‌کنند [۱۹]. این گروه‌های عاملی کمپلکس‌هایی با یون‌های الکترولیت، لیگاندها، کمپلکس لیگاند - فلزی و گروه‌های عاملی آلی موجود در جامدات زیستی تشکیل می‌دهند [۲۰]. جذب بر روی سطوح اکسیدهای فلزی رقابتی بوده [۲۱] و به نسبت گونه‌های مختلف جذب شونده به ترکیب جامدات زیستی و شیمی سطح نانوذرات اکسیدفلزی بستگی دارد. با توجه به بالا بودن غلظت لیگاندهای آلی در جامدات زیستی [۱۸] و تمایل آنها به اتصال به فلزات استفاده شده در نانوذرات اکسیدفلزی مانند مس، روی و آهن [۲۲]، این احتمال وجود دارد که نانوذرات اکسید فلزی با مواد آلی کمپلکس‌های سطحی تشکیل بدهند. این پوشش‌های آلی می‌توانند ویژگی نانوذره را تغییر دهند [۲۳]. گونه‌های یونی موجود در جامدات زیستی مانند PO_4^{3-} ، Ca^{2+} ، Mg^{2+} ، NO_3^- می‌توانند کمپلکس‌هایی با سطوح نانوذرات اکسید فلزی تشکیل دهند [۲۴] و به احتمال زیاد با مواد آلی برای مکان‌های جذبی رقابت کنند.

جامدات زیستی حاوی نانوذرات سولفید نقره در خاک به عنوان یک اصلاح کننده برای تأمین مواد غذایی برای رشد گیاهان، استفاده می‌شوند [۲۵] و در نتیجه نانوذرات سولفید نقره از طریق کاربرد جامدات زیستی به سیستم‌های خاکی وارد می‌شوند. مسیر اولیه قرارگیری نانوذرات نقره در داخل محیط‌زیست، از طریق ورود فاضلاب می‌باشد [۲۶]. در طی تصفیه فاضلاب، اکثر نانوذرات نقره (<۸۵٪) توسط جامدات زیستی حفظ شده [۲۷]، و قسمت اعظم نانوذرات نقره به سولفید نقره تبدیل می‌شوند. کاهش زیست‌فراهمی نانوذرات نقره به جانداران خاکری [۲۸]، به علت برهمکنش قوی نانوذرات نقره با رس و مواد آلی خاک است [۲۹]. نانوذرات نقره‌ای که سمیت و زیست‌فراهمی کمی دارند، به صورت سولفیدی هستند زیرا حلالیت سولفید نقره بسیار پایین است [۳۰].

۳- واکنش‌پذیری نانوذرات

از جمله ویژگی‌های اصلی نانوذرات، واکنش‌پذیری سریع آن‌ها در مقایسه با سایر مواد است که باعث شده از آن‌ها به عنوان کاتالیست استفاده شود. نانوذرات واکنش‌پذیر، واکنش‌های کاتالیستی را در سلول‌ها آغاز می‌کنند و باعث تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن می‌شوند. از آنجا که در فرآیندهای کاتالیستی ذرات دچار تخریب نمی‌شوند، بنابراین زنجیره از واکنش‌ها در سیستم‌های بیولوژیکی مورد انتظار است. چنین واکنش‌پذیری غیرمعمول باعث سمی شدن بیشتر نانوذرات می‌شود [۳۱]. بار الکتریکی نانوذرات باعث واکنش‌پذیرتر شدن آن‌ها در سلول‌ها و پروتئین‌ها در مقایسه با نمونه‌های خنثی آن‌ها می‌شود [۳۲]. سازوکار اصلی خطرات نانوذره از طریق تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن است [۳۳]. با کوچک‌تر شدن اندازه ذرات واکنش‌پذیری گروه‌های موجود در نانوذره افزایش می‌یابد. گروه‌های واکنش‌پذیر سطح ذره ممکن است از گونه‌های مختلف باشند به‌طور مثال، آب‌دوست، آب‌گریز یا دارای خاصیت کاتالیستی باشند. معمولاً رادیکال آزاد اکسیژن تولید شده بسیار

^۲ US Environmental Protection Agency (USEPA)

^۳ Toxic Substances Control act (TSCA)

^۴ Significant New Use Rule (SNUR)

^۵ Wastewater treatment plant (WWTP)

^۶ Biosolids

سلولی ساده‌تری در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت دارند [۴۴]. نانوذرات طلا اثر ضدباکتریایی را از طریق تغییر پتانسیل غشایی و جلوگیری از ساخت ATP که باعث کاهش سوخت و ساز باکتری می‌شود، انجام می‌دهد [۴۵]. ماشینو و همکاران [۴۶]، مهار رشد باکتری *E. Coli* را از طریق مشتقات فلورن مطالعه کردند و گزارش کردند که مشتقات فلورن کاتیونی مانع رشد *E. Coli* می‌شود اما مشتقات فلورن آنیونی هیچگونه مهار رشد را نشان نداد. غیرفعال شدن توابع پروتئین سلولی توسط نانوذرات نقره توسط محققان مختلف گزارش شده است. از آنجا که نانوذرات نقره به عنوان یک عامل ضدباکتری استفاده می‌شود، یکی از سازوکارهای سمیت نانوذرات نقره از طریق آزادسازی یون نقره متصل به گروههای عاملی پروتئین‌ها^۷ بوده که منجر به واسرشته شدن پروتئین می‌شود [۴۷]. پروتئین‌ها و لیپیدها نیز توسط گونه‌های فعال اکسیژن که توسط نانوذرات نقره تولید شده‌اند، مورد حمله قرار می‌گیرند [۴۸]. ترکیبات سمی آزاد شده مانند یون‌های فلزی محلول که باعث مسموم شدن ریزجانداران می‌شود. برای مثال، مطالعه سمیت شکل‌های مختلف نانوبلورهای اکسید روی، اکسید مس و تیتانیم دی‌اکسید به باکتری *Vibrio fischeri* برای ارزیابی تفاوت سمیت در میان این نانوذرات انجام شد. نتایج نشان داد که تیتانیم دی‌اکسید حتی در غلظت‌های بالا اثر سمیت نشان نداد، اما نانوذرات اکسید روی و اکسید مس به ترتیب در غلظت‌های ۱/۹ و ۷۹ میلی‌گرم بر لیتر سمی بودند.

همچنین تماس نزدیک بین نانوذرات و ریشه‌ها می‌تواند منجر به جذب نانوذرات توسط ریشه‌ها شده و انتقال نانوذرات در گیاهان شود [۴۹]. علاوه‌براین، بسیاری از مطالعات اثرهای جانبی و سمیت نانوذرات را بر روی گیاهان نشان داده است [۵۰]. چنین عوارض جانبی نانوذرات بسیار پیچیده بوده و به‌شدت به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و برهمکنش این ذرات بستگی دارد. استون و همکاران [۵۱] گزارش کردند که ویژگی اصلی نانوذرات که باید در مطالعات سمیت آن ارزیابی شود توصیف پراکندگی، تجمع، سرعت حل‌پذیری، اندازه، بار و سطح ویژه و شیمی سطح است. این ویژگی‌ها به احتمال زیاد نقش کلیدی در کنترل ثبات نانوذرات و به تبع آن انتقال نانوذرات به محیط زیست و زیست‌فراهمی آن به جانداران دارد. آدامس و همکاران [۵۲]، سمیت نانوذرات TiO_2 ، SiO_2 و ZnO را در آب حاوی باکتری باسیلوس و اشریشیاکلا مطالعه و گزارش کردند که نانوذرات می‌توانند به هر دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی سمی باشند که سمیت به‌ترتیب $\text{SiO}_2 > \text{TiO}_2 > \text{ZnO}$ کاهش یافت. جی و همکاران [۵۳]، تأثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیم و اکسید روی را بر جمعیت میکروبی خاک مطالعه کرده و نشان دادند که هر دو نانوذره، توده میکروبی و تنوع میکروبی را کاهش داده است.

سمیت نانوذرات فلزی از جمله ZnO ، TiO_2 و CeO_2 به‌دلیل ویژگی‌های خاص مربوط به اندازه کوچک و فعالیت سطحی بالای نانوذرات است. درحالی‌که ممکن است اثرهای

واکنش‌پذیر بوده و باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول‌ها می‌شود.

۴- سمیت نانوذرات

بررسی‌ها نشان داده است که سمیت نانوذرات به‌ویژه نانوذرات فلزی به ویژگی‌های فیزیکی ذره مانند اندازه، شکل، پوشش سطحی، سازگاری زیستی و واکنش‌پذیری و روش ساخت نانوذره بستگی دارد [۳۴]. سازوکارهای احتمالی سمیت نانوذرات شامل تخریب غشاهای، آسیب اکسیداتیو پروتئین‌ها، آسیب DNA، مختل شدن انتقال الکترون، تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و انتشار ترکیبات سمی می‌باشند [۳۵]. با این حال نانومواد مختلف معمولاً سازوکارهای مختلفی را نشان می‌دهند. این تفاوت‌ها به ترکیب، سطح، ویژگی‌های ذاتی و گونه‌های باکتریایی بستگی دارد [۳۶]. محققان همچنین دریافته‌اند که اندازه کوچک (نسبت سطح به بالای حجم) و حل‌پذیری نانوذرات فلزی می‌تواند سمیت بیشتری به باکتری ایجاد کند. اعظم و همکاران [۳۷]، نشان دادند که فعالیت ضد میکروبی CuO ، ZnO و Fe_2O_3 در مقابل هر دو باکتری گرم منفی (*E. coli* and *P. aeruginosa*) و گرم مثبت (*B. subtilis* and *S. aureus*) با افزایش نسبت سطح به حجم نانوذرات افزایش یافت. مطالعات مشابه نشان داد که سمیت نانوذرات اکسید سزیم، نانوذرات نقره، نانوذرات کیتوزان و نانوذرات مس زمانی‌که به باکتری‌های نیترات‌ساز (نیتروباکتر و نیتروزوموناس)، باکتری اشریشیا کولای (*E. Coli*) و باسیلوس سابیتیلوس اعمال شود، بستگی به اندازه نانوذره دارد [۳۸]. مطالعات بر روی سمیت نانوذرات نقره و نانوذرات اکسید روی به باکتری نیترات‌ساز *E. Coli* نشان داد که اثر ضدباکتریایی این نانوذرات از طریق آزادسازی یون‌های نقره و روی می‌باشد [۳۹]. نانوذرات توانایی اتصال به غشای باکتریایی از طریق برهمکنش الکترواستاتیک و اختلال در ساختار غشاهای را دارند [۴۰]. یکی دیگر از سازوکارهای احتمالی سمیت نانوذرات، تنش‌های اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌باشد [۴۱]. گونه‌های فعال اکسیژن اغلب از راه‌های زیر تولید می‌شوند:

۱) تولید مستقیم ROS با توجه به قرارگیری در معرض یک محیط اسیدی مانند لیزوزوم یا از سطوح نانوذرات یا از یون‌های آزاد شده، ۲) برهمکنش نانوذرات با اندامک‌های سلولی، ۳) برهمکنش بین نانوذرات و پروتئین فعال ریداکس مانند NADPH (اکسیداز، ۴) برهمکنش بین نانوذرات و گیرنده‌های سطح سلولی. به‌طورکلی، گونه‌های ROS را می‌توان به دو نوع ROS رادیکالی (رادیکال‌های هیدروکسید یا اکسید نیتریک) و ROS غیررادیکالی (پراکسید هیدروژن) تقسیم‌بندی کرد [۴۲]. همچنین نانوذرات توانایی مختل نمودن همانندسازی DNA و تقسیم سلولی را دارند [۴۱]. مطالعات اثر ضدباکتریایی نانوذرات یدید مس (CuI) بر گونه‌های مختلف باکتری‌ها نشان داد که آسیب DNA و تخریب غشاهای سازوکارهای احتمالی مرتبط با نانوذرات یدید مس هستند. علاوه‌بر این، گزارش شده که این نانوذرات در هنگام استفاده در غلظت‌های پایین به باکتری‌های گرم منفی مؤثر هستند [۴۳]، زیرا این باکتری‌ها ساختار غشای

⁷ Denaturation

سمیت آنها با آزاد شدن یونها افزایش یابد [۵۴]. اگر یونهای آزاد سمی تر از ذرات اصلی باشند این روند حل پذیری به احتمال زیاد منجر به افزایش سمیت خواهد بود. فرانکلین و همکاران [۵۵] نشان دادند که سمیت نانوذرات اکسید روی به جلبک گونه *Pseudokirchneriella subcapitata* به حل پذیری روی مربوط می شود. با توجه به سمیت شناخته شده شکل یونی برخی از فلزات، حلالیت نانوذرات فلزی ممکن است مورد توجه قرار بگیرد.

مطالعات متعدد تفاوت سمیت نمک های مس در مقایسه با نانوذرات را نشان داده اند [۵۶]. نیر و همکاران [۵۷] اثرهای نانوذرات فلزی را بر رشد گیاه مطالعه و گزارش کردند که تجمع نانوذرات ممکن است منافذ و کانال ها را مسدود کرده و در نتیجه باعث سمیت یون های فلزی که تحرک بیشتری در داخل گیاهان دارند، بشود.

اطلاعات کمی درباره اثرهای سمی نانوذرات آلومینیم بر جانداران وجود دارد. نانو ذرات Al_2O_3 هیچ اثری بر باروری (مثل تولید پیله، تولید مثل) و مرگ و میر بر کرم خاکی در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نداشت [۵۸]. اثرهای باروری نانوذرات Al_2O_3 بر کرم خاکی در غلظت های بالاتر از ۳۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد [۵۹].

فرآیندهایی که نانوذرات اکسید فلزی اثرهای سمی بر موجودات زنده اعمال می کند شامل: جذب مستقیم ذره، جذب به سطوح زیستی، رهاسازی یون های فلزی (Me^{n+}) و انتقال و رهاسازی آلاینده ها هستند [۶۰] که در دو فرآیند کلی زیر بررسی می شود.

۱-۴- جذب مستقیم نانوذرات اکسید فلزی به بافت ها

برخی از نانوذرات فلزی (به عنوان مثال، تیتانیم دی اکسید) به احتمال زیاد حل پذیری خیلی کم در محیط پایدار باقی می مانند. آزمایش های سینتیکی نشان داد که نانوذرات تیتانیم دی اکسید پس از تشکیل تجمع در محلول آب و خاک بسیار پایدار است [۶۱]. برای چنین نانوذراتی، تجمع زیستی ممکن است اتفاق بیفتد [۶۲]. نانوذرات نقره موجب تشکیل گونه های فعال اکسیژن در سلول ها شده همچنین سمیت آنها به سازوکارهای ROS مربوط می باشد [۶۳]. مطالعه ای اخیر نشان داده است که کرم C-الکانس تشکیل ROS را زمانی که در معرض نانوذرات نقره ۱ میلی گرم بر لیتر (۲۰-۳۰ نانومتر در محیط) قرار می گیرد، افزایش می دهد، درحالی که هیچگونه افزایشی در تولید ROS در نیترات نقره مشاهده نشد [۶۴]. نانوذرات نقره ای که پتانسیل زتای منفی دارند در محلول با ثبات هستند [۵۸]. زیرا پتانسیل زتا منفی نانوذرات باعث ایجاد دافعه به خاک کرده و منجر به زیست فراهمی نانوذره می شود. همچنین اندازه ذرات سمیت را تحت تأثیر قرار می دهد، نتایج نشان داد که نوع خاک نسبت به اندازه ذرات مهم تر است [۶۵]. نانوذرات نقره اثرهای سمی واضحی بر فعالیت آنزیم ها در غلظت های بسیار پایین داشتند [۶۶]. نانوذرات نقره همچنین اثر مستقیم بر میزان رشد و جمعیت کرم های لومبریکوس روبولوس (*Lumbricus rubellus*) دارند. مواجهه با غلظت های بالای نانوذرات نقره برای یک مدت

طولانی ممکن است رشد جمعیت میکروبی را به صفر برساند. این ذرات همچنین بر سیستم ایمنی کرم های خاکی نیز تأثیر می گذارند [۶۷].

سمیت نانوذرات نقره برای باکتری های باسیلوس سرئوس^۸ خاک و پseudomonas استوتزری^۹ و اثرهای ضد باکتریایی آن در غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر پس از ۴۸ ساعت مشاهده شده است. نانوذرات ZnO، تأثیرات نامطلوب بر باروری کرم های خاکی داشتند و جذب آنها بیشتر از جذب ZnO توده ای و $ZnCl_2$ بود [۶۸]. نانوذرات ZnO و نمک $ZnCl_2$ اثرهای سمی مزمن مشابهی بر رشد، باروری و تجمع پذیری در مگنا دافنیا نشان دادند [۶۹]. نانوذرات سزیم بر فرآیند نیترات زدایی در نمونه های خاک تأثیر داشتند و فرآیند نیترات زدایی به اندازه نانوذرات، غلظت و گونه های مورد آزمایش بستگی داشت [۷۰]. مطالعه ای برای تعیین سمیت سه نوع ذره اکسید سزیم (CeO) از نظر تولید مثل، تجمع پذیری، بقا و آسیب بافت بر کرم خاکی ایسینا فیتیدا انجام شد. نتایج نشان داد که مواجهه طولانی مدت می تواند باعث ایجاد تغییرات اثرهای آسیب بافت در ایسینا فیتیدا^{۱۰} شود [۷۱]. در یک خاک لوم شنی، کرم خاکی به طور معناداری نقره بیشتری از نانوذرات نقره نسبت به یک خاک مصنوعی جذب کرده بود، ویژگی های خاک لوم شنی مانند pH و مقدار مواد آلی پایین منجر به فراهمی بیشتر یون های نقره شد [۷۲].

زمانی که نانوذرات اکسید فلزی به طور مستقیم توسط موجودات زنده جذب شوند، ممکن است موجب آسیب سطح سلول ها از طریق اختلال در فرآیندهای زیستی شوند [۷۲]. اگرچه مطالعات نشان داده است که گیاهان می توانند به طور مستقیم نانوذرات اکسید فلزی را در سیستم های آبی جذب کرده و انتقال دهند [۷۳]، ولی اطلاعات کمی از جذب نانوذرات توسط گیاهان در محیط های خاکی وجود دارد.

۲-۴- جذب به سطوح زیستی

اگر نانوذرات اکسید فلزی به سطوح زیستی جذب شوند، رشد موجود زنده را از طریق مسدود کردن مکان های جذب مواد غذایی و آب کاهش داده و یا باعث آسیب بافت ها از طریق تولید رادیکال های آزاد می شوند [۷۴]. اثر مواد آلی بر جذب نانوذرات اکسید فلزی بر روی سطوح زیستی در خاک ها هنوز به طور دقیق مشخص نیست [۷۵]، پوشش های مواد آلی طبیعی، سطح تماس بین باکتری و نانوذرات اکسید فلزی را کاهش می دهد [۷۶]. همچنین مواد آلی سمیت یون های فلزی آزاد شده از حل شدن نانوذرات را از طریق کمپلکس کردن کاهش می دهد [۷۷].

تأثیر ترشحات آلی ریز جانداران بر جذب نانوذرات اکسید فلزی و آسیب ناشی از تولید رادیکال ها در خاک ها تا به امروز گزارش نشده است.

فاضلاب خانگی حاوی فلزات کم مقدار مانند Cd، Pb و As بوده [۱۸] و ممکن است با نانوذرات اکسید فلزی کمپلکس بدهند

⁸ Bacillus cereus

⁹ Pseudomonas stutzeri

¹⁰ Eisna fetida



3. F, Gottschalk; B, Nowack; The release of engineered nanomaterials to the environment. J. Environ. Monit 13:1145–1155, 2011.
4. T, Scown; R, van Aerle; C, Tyler; Review: Do engineered nanoparticles pose a significant threat to the aquatic environment. Crit. Rev. Toxicol 40: 653–670, 2010.
5. KL, Garner; AA, Keller; Emerging patterns for engineered nanomaterials in the environment: a review of fate and toxicity studies. J Nanopart Res 16: 1-28, 2014.
6. JT, Quik; JA, Vonk ; SF, Hansen; How to assess exposure of aquatic organisms to manufactured nanoparticles? Environ Int 37: 1068-77, 2011.
7. AA, Keller; A, Lazareva; Predicted releases of engineered nanomaterials: from global to regional to local. Environ Sci Technol Lett 1: 65-70, 2013.
8. P, Tourinho; C, van Gestel; S, Loft; C, Svendsen; M, Soares; S, Loureiro; Metal-based nanoparticles in soil: Fate, behavior and effects on soil invertebrates. Environ. Toxicol. Chem. 31:1679–1692, 2012.
9. International Organization for Standardization. Soil quality: Requirements and guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability of contaminants in soil and soil materials. ISO17402, 2011.
10. M, Bakshi; H, Singh; P, Abhilash; The unseen impact of nanoparticles: More or less. Curr Sci 106: 350-2, 2014.
11. TM, Benn; P, Westerhoff; Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics. Environmental Science and Technology 42:4133–4139, 2008.
12. R, Kaegi; B, Sinnet; S, Zuleeg; H, Hagendorfer; E, Mueller; R, Vonbank; M, Boller ; M, Burkhardt; Release of silver nanoparticles from outdoor facades. Environmental Pollution 158:2900–2905, 2010.
13. W, Cui; W, Lu; Y, Zhang; G, Lin; T, Wei ; L, Jiang; Gold nanoparticle ink suitable for electric-conductive pattern fabrication using in ink-jet printing technology. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 358: 35–41, 2010.
14. RJ, Barnes; O, Riba; MN, Gardner; TB, Scott; SA, Jackman; IP, Thompson; Optimization of nano-scale nickel/iron particles for the reduction of high

[۷۸]. از این رو این نگرانی وجود دارد که نانوذرات ممکن است آلاینده‌ها را به موجودات زنده از طریق کمپلکس سطحی انتقال دهند [۷۹]. در حال حاضر اطلاعات کافی درباره اینکه آیا نانوذرات اکسید فلزی عامل انتقال آلاینده‌ها به موجودات زنده خواهد بود یا نه وجود ندارد. با این وجود، برخی اظهار نظرها در مورد سمیت نانوذرات در خاک به صورت زیر وجود دارد:

- (۱) حضور نانوذرات در بافت‌های جانداران نشان دهنده احتمال همگون‌سازی نانوذرات است [۸۰].
- (۲) ترکیب اصلی نانوذرات سمیت آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، برای مثال، تیتانیم دی‌اکسید سمیت کمتری نسبت به نقره [۸۱] و نانوذرات اکسید روی نشان داد است [۸۲].
- (۳) آزمایش‌های سمیت باید در محیطی انجام شود که به شرایط واقعی نزدیک است تا درک بهتری از سمیت نانوذرات در محیط حاصل شود [۸۳].

۵. نتیجه گیری

گرچه نگرانی از سمیت ناشناخته نانوذرات رو به افزایش است، فقدان روش مناسب تجربی برای اعتبارسنجی روش تعیین سمیت یک مانع عمده در مسمومیت ناشی از ترکیب‌های نانو است. مهمتر از همه برخی از جنبه‌های نگران کننده نانو سم‌ها مانند (۱) موادی که در ابعاد بزرگتر سمی نیستند ممکن است در ابعاد نانو مقیاس سمی باشند، (۲) نانوذرات احتمال دارد با سلول‌ها و اجزای مختلف زیستی مانند پروتئین‌ها واکنش دهند، (۳) بسیاری از مطالعات سمیت نانوذرات در غلظت‌های بالاتر از مقدار واقعی و در محیط‌های مصنوعی و کشت بدون خاک انجام شده است و نتایج حاصل قابل‌تعمیم به محیط طبیعی خاک نیست. اظهارات فوق به وضوح نشان می‌دهد که مطالعه اثر سمیت نانوذرات هنوز در مراحل اولیه است. بنابراین، ادغام رشته‌های مختلف زیربنای اصول نانوذرات مانند فیزیک، شیمی، بیولوژی، مواد و مهندسی و علوم کاربردی مانند روش‌های مولکولی، سم‌شناسی برای کاربرد گسترده نانوذرات بر سلامت محیط زیست ضروری است. نتیجه‌گیری قاطع در این مورد بر اساس مطالعات موجود امکان‌پذیر نمی‌باشد. لذا روش‌های استاندارد برای شناخت سمیت انواع مختلف نانوذرات می‌بایست تهیه شده و توسعه یابد. خطرهای مرتبط با نانوذرات که وارد محیط می‌شوند، سازوکار انتقال، سرنوشت آن‌ها در محیط و اثرهای آنها بر ریزجانداران بایستی در زمینه‌های مختلف زیر بررسی شود: (۱) اندازه‌گیری دقیق میزان انتشار نانوذرات در محیط زیست، (۲) بررسی غلظت و رفتار نانوذرات در محیط، (۳) ارزیابی چرخه زندگی نانوذرات در محیط، (۴) ارزیابی میزان سمیت بر ریزجانداران خاکری.

۶. منابع

1. National Nanotechnology Initiative (NNI). What is Nanotechnology? 2008.
2. R, Handy; F, von der Kammer; J, Lead; M, Hasselov; R, Owen; M, Crane; The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. Ecotoxicology 17:287–314, 2008.



- influence of phosphate. *Environmental Science and Technology* 46:7215-7221, 2012.
25. GE, Batley; MJ, McLaughlin; Fate of manufactured nanomaterials in the Australian environment, National Research Flagships, CSIRO, Adelaide pp: 86, 2008.
 26. F, Gottschalk ; T, Sonderer; RW, Scholz; B, Nowack; Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, fullerenes) for different regions. *Environmental Science and Technology* 43: 9216-9222, 2009.
 27. CL, Doolette; MJ, McLaughlin; JK, Kirby; DJ, Batstone; HH, Harri; H, Ge; Cornelis, Transformation of PVP coated silver nanoparticles in a simulated wastewater treatment process and the effect on microbial communities. *Chemistry Central Journal* 7: 46-64, 2013.
 28. W, Lee; JI, Kwak; YJ, An; Effect of silver nanoparticles in crop plants *Phaseolus radiatus* and *Sorghum bicolor*: media effect on phytotoxicity, *Chemosphere* 86:491-499, 2012.
 29. G, Cornelis; K, Hund-Rinke; T, Kuhlbusch; N, Van den Brink; C, Nickel; Fate and bioavailability of engineered nanoparticles in soils: a review, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 44:2720-2764, 2014.
 30. MP, Hirsch; Availability of sludge-borne silver to agricultural crops. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17:610-616, 1998.
 31. WJ, Stark; Nanoparticles in biological systems. *Angew Chem Int Ed Engl* 50: 1242-58, 2011.
 32. ZJ, Deng; M, Liang; I, Toth; Plasma protein binding of positively and negatively charged polymer-coated gold nanoparticles elicits different biological responses. *Nanotoxicology* 7: 314-22, 2012.
 33. A, Nel; T, Xia; L, Mädler; Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 311: 622-7, 2006.
 34. AK, Suresh; DA, Pelletier; MJ, Doktycz; Relating nanomaterial properties and microbial toxicity. *Nanoscale* 5: 463-474, 2013.
 35. SJ, Klaine; PJ, Alvarez; GE, Batley; TF, Fernandes; RD, Handy; DY, Lyon; JR, Lead; Nanomaterials in the environment: Behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27: 1825- 1851, 2008.
 36. MJ, Hajipour; KM, Fromm; A, AkbarAshkarran; D, Jimenez de Aberasturi; IR, concentration chlorinated aliphatic hydrocarbon solutions. *Chemosphere* 79:448-454, 2010.
 15. NC, Mueller;B, Nowack; Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environmental Science and Technology* 42:4447-4453, 2008.
 16. MA, Kiser; DA, Ladner; KD, Hristovski ; PK, Westerhoff; Nanomaterial transformation and association with fresh and freeze-dried wastewater activated sludge: Implications for testing protocol and environmental fate. *Environmental Science and Technology* 46:7046-7053, 2012.
 17. EZ, Harrison; SR, Oakes; M, Hysell; A, Hay; Organic chemicals in sewage sludges. *Science of the Total Environment* 367:481-497, 2006.
 18. DL, Pritchard; N, Penney; MJ, Mclaughlin; H, Rigby; K, Schwarz; Land application of sewage sludge (biosolids) in Australia: risks to the environment and food crops. *Water Science and Technology* 62:48-57, 2010.
 19. GD, Panagiotou; T, Petsi; K, Bourikas; CS, Garoufalos; A, Tsevis; N, Spanos; C, Kordulis ; A, Lycourghiotis; Mapping the surface (hydr) oxo-groups of titanium oxide and its interface with an aqueous solution: The state of the art and a new approach. *Advances in Colloid and Interface Science* 142:20-42, 2008.
 20. T, Hiemstra; J, Antelo; R, Rahnemaie; WH, Vanriemsdijk; Nanoparticles in natural systems I: The effective reactive surface area of the natural oxide fraction in field samples. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 74:41-58, 2010.
 21. JQ, Zhang; YH, Dong; Effect of low-molecular-weight organic acids on the adsorption of norfloxacin in typical variable charge soils of China. *Journal of Hazardous Materials* 151:833-839, 2008.
 22. MB, McBride; *Environmental Chemistry of Soils*, New York, Oxford University Press, 1994.
 23. AA, Keller; HT, Wang; DX, Zhou; HS, Lenihan; G, Cherr; BJ, Cardinale; R, Miller; ZX, Ji; Stability and aggregation of metal oxide nanoparticles in natural aqueous matrices. *Environmental Science and Technology* 44:1962-1967, 2010.
 24. JT, Lv; SZ, Zhang; L, Luo; W, Han; J, Zhang; K, Yang; P, Christie; Dissolution and microstructural transformation of ZnO nanoparticles under the



- Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 9: 2959-2962, 1999.
47. I, Sondi; B, Salopek-Sondi; Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on *E. coli* as a model for gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*. 275:177-182, 2004.
 48. E, Cabiscol; J, Tamarit; J, Ros; Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species. *International Microbiology* 1: 3-8, 2010.
 49. JL, Gardea-Torresdey; CM, Rico; JC, White; Trophic transfer, transformation, and impact of engineered nanomaterials in terrestrial environments. *Environmental Science and Technology* 48:2526-2540, 2014.
 50. K, Midander; P, Cronholm; HL, Karlsson ; K, Elihn; L, Moller; C, Leygraf; IO, Wallinder ; Surface characteristics, copper release, and toxicity of nano- and micrometersized copper and copper (II) oxide particles: a cross-disciplinary study. *Small* 5:389-399, 2009.
 51. V, Stone; B, Nowack; A, Baun; N, van den Brink; F, von der Kammer; M, Dusinska; R, Handy; S, Hankin; M, Hasselov; E, Joner; TF, Fernandes; Nanomaterials for environmental studies: classification, reference material issues, and strategies for physico-chemical characterisation. *Science of the Total Environment* 408:1745-1754, 2010.
 52. LK, Adams; DK, Lyon; PJ, Alvarez; Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. *Water Research* 40: 3527-3532, 2006.
 53. Y, Ge; JP, Schimel; PA, Holden; Evidence for negative effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles on soil bacterial communities. *Environmental Science and Technology* 45:1659-64, 2011.
 54. M, Auffan; J, Rose; MR, Wiesner; JY, Bottero; Chemical stability of metallic nanoparticles: A parameter controlling their potential cellular toxicity in vitro. *Environ Pollut* 157:1127-1133, 2009.
 55. N, Franklin; N, Rogers; S, Apte, G, Batley; G, Gadd; P, Casey P; Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalgae (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility. *Environmental Science and Technology* 41:8484-8490, 2007.
 56. SIL, Gomes; SC, Novais; JJ, Scott-Fordsmand; W, De Coen; Am, Soares; MJ, Amorim, Effect of Cu-Larramendi; T, Rojo; M, Mahmoudi; Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, 2012.
 37. A, Azam; AS, Ahmed; M, Oves; MS, Khan; SS, Habib; A, Memic; Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against gram-positive and gramnegative bacteria: A comparative study. *International Journal of Nanomedicine* 7: 6003, 2012.
 38. DA, Pelletier; AK, Suresh; GA, Holton; CK, McKeown; W, Wang; B, Gu; MR, Allison; Effects of engineered cerium oxide nanoparticles on bacterial growth and viability. *Applied and Environmental Microbiology* 76: 7981-7989, 2010.
 39. M, Li; L, Zhu; D, Lin; Toxicity of ZnO nanoparticles to *escherichia coli*: Mechanism and the influence of medium components. *Environmental Science and Technology* 45: 1977-1983, 2011.
 40. A, Thill; O, Zeyons; O, Spalla; F, Chauvat ; J, Rose; M, Auffan; AM, Flank; Cytotoxicity of CeO₂ nanoparticles for *escherichia coli*. physicochemical insight of the cytotoxicity mechanism. *Environmental Science and Technology* 40: 6151-6156, 2006.
 41. JT, Seil; TJ, Webster; Antimicrobial applications of nanotechnology: Methods and literature. *International Journal of Nanomedicine* 7: 2767, 2012.
 42. SJ, Soenen; P, Rivera-Gil; J, Montenegro ; WI, Parak; SC, De Smedt; K, Braeckmans; Cellular toxicity of inorganic nanoparticles: Common aspects and guidelines for improved nanotoxicity evaluation. *Nano Today* 6: 446-465, 2011.
 43. A, Pramanik; D, Laha; D, Bhattacharya; P, Pramanik; P, Karmakar; A novel study of antibacterial activity of copper iodide nanoparticle mediated by DNA and membrane damage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 96:50-55, 2012.
 44. AA, Tayel; WF, EL-tras; S, Moussa; AF, EL-baz; H, Mahrous; MF, Salem; L, Brimer; Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens. *Journal of Food Safety* 31: 211-218, 2011.
 45. Y, Cui; Y, Zhao; Y, Tian; W, Zhang; X, Lü; X, Jiang; The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on *escherichia coli*. *Biomaterials* 33: 2327-2333, 2012.
 46. T, Mashino; K, Okuda; T, Hirota; M, Hirobe; T, Nagano; M, Mochizuki; Inhibition of *E. coli* growth by fullerene derivatives and inhibition mechanism.

- avoidance of Ag nanoparticles by earthworms (*Eisenia fetida*). *Ecotoxicology* 20:385–396, 2011.
66. C, Peyrot; KJ, Wilkinson; M, Desrosiers; Effects of silver nanoparticles on soil enzyme activities with and without added organic matter. *Environ Toxicol Chem* 33: 115-25, 2014.
 67. MJ, vander Ploeg; RD, Handy; PL, Waalewijn-Kool; Effects of silver nanoparticles (NM-300K) on *Lumbricus rubellus* earthworms and particle characterization in relevant test matrices including soil. *Environ Toxicol Chem* 33: 743-52, 2014.
 68. C, García-Gomez; M, Babin; A, Obrador ; Toxicity of ZnO Nanoparticles, ZnO Bulk, and ZnCl₂ on Earthworms in a Spiked Natural Soil and Toxicological Effects of Leachates on Aquatic Organisms. *Arch Environ Contam Toxicol* 67: 465-73, 2014.
 69. N, Adam; C, Schmitt; J, Galceran; 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: 709-17, 2014.
 70. JT, Dahle; Y, Arai; Effects of Ce (III) and CeO₂ nanoparticles on soil-denitrification kinetics. *Arch Environ Contam Toxicol* 67: 474-82, 2014.
 71. E, Lahive; K, Jurkschat; BJ, Shaw; Toxicity of cerium oxide nanoparticles to the earthworm *Eisenia fetida*: subtle effects. *Environ Chem* 11: 268-78, 2014.
 72. K, Donaldson; CA, Poland; RP, Schins; Possible genotoxic mechanisms of nanoparticles: Criteria for improved test strategies. *Nanotoxicology* 4:414-420, 2010.
 73. M, Tal Ben; F, Sammy; D, Ishai; M, Dror ; B, Brian; Effects of metal oxide nanoparticles on soil properties. *Journal Chemosphere*. 90:640-646, 2013.
 74. AL, Neal; N, Kabengi; A, Grider; PM, Bertsch; Can the soil bacterium *Cupriavidus necator* sense ZnO nanomaterials and aqueous Zn²⁺ differentially? *Nanotoxicology* 6:371-380, 2012.
 75. LJ, Zhao; JR, Peralta-videa; A, Varela-ramirez; H, Castillo-michel; CQ, LI; JY, Zhang; RJ, Aguilera; AA, Keller; JL, Gardea-torresdey; Effect of surface coating and organic matter on the uptake of CeO₂ NPs by corn plants grown in soil: Insight into the uptake mechanism. *Journal of Hazardous Materials* 225:131-138, 2012.
- nanoparticles versus Cu-salt in *Enchytraeus albidus* (*Oligochaeta*): Differential gene expression through microarray analysis. *Comp Biochem Physiology Part C: Toxicology Pharmacology* 155:219–227, 2012.
57. R, Nair; SH, Varghese; BG, Nair; T, Maekawa; Y, Yoshida; DS, Kumar; Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Sci*. 179, 154–163, 2010.
 58. LH, Heckmann; M, Hovgaard; D, Sutherland; H, Autrup; F, Besenbacher; J, Scott-Fordsmand; Limit-test toxicity screening of selected inorganic nanoparticles to the earthworm *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology* 20:226–233, 2011.
 59. WA, Shoults-Wilson; BC, Reinsch; OV, Tsyusko; PM, Bertsch; GV, Lowry; JM, Unrine ; Effect of silver nanoparticle surface coating on bioaccumulation and reproductive toxicity in earthworms (*Eisenia fetida*). *Nanotoxicology* 5:432–444, 2010.
 60. JY, Bottero; M, Auffan; J, Rose; C, Mouneyrac; C, Botta; J, Labille; A, Masion; A, Thill; C, Chaneac; Manufactured metal and metal-oxide nanoparticles: Properties and perturbing mechanisms of their biological activity in ecosystems. *Comptes Rendus Geoscience* 343: 168-176, 2011.
 61. RA, French; AR, Jacobson; B, Kim; SL, Isley; RL, Penn; PC, Baveye; Influence of ionic strength, pH, and cation valence on aggregation kinetics of titanium dioxide nanoparticles. *Environmental Science and Technology* 43:1354–1359, 2009.
 62. J, Unrine; P, Bertsch; S, Hunyadi; Bioavailability, Trophic Transfer, and Toxicity of Manufactured Metal and Metal Oxide Nanoparticles in Terrestrial Environments. John Wiley & Sons, New York, USA, 2008.
 63. O, Choi; Z, Hu; Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Environmental Science and Technology* 42:4583–4588, 2008.
 64. D, Lim; JY, Roh; HJ, Eom; J, Choi; J, Hyun; J, Choi; Oxidative stress related PMK-1 P38 MAPK activation as a mechanism of toxicity of silver nanoparticles on the reproduction of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 3: 585-592, 2012.
 65. W, Shoults-Wilson; O, Zhurbich; D, McNear; O, Tsyusko; P, Bertsch; J, Unrine; Evidence for



76. I, Chowdhury; DM, Cwiertny; SL, Walker; Combined factors influencing the aggregation and deposition of nano-TiO₂ in the presence of humic acid and bacteria. *Environmental Science and Technology* 46:6968-6976, 2012.
77. C, Gunawan; WY, Teoh; CP, Marquis; R, AMAL; Cytotoxic origin of copper (II) oxide nanoparticles: comparative studies with micron-sized particles, leachate, and metal salts. *ACS Nano* 5: 7214-7225, 2011.
78. NB, Hartmann; S, Legros; F, Vonderkammer; T, Hofmann; A, Baun; The potential of TiO₂ nanoparticles as carriers for cadmium uptake in *Lumbriculus variegatus* and *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 118: 1-8, 2012.
79. V, Peralta; JR, Zhao; L, Lopez-moreno; ML, Delarosa; G, Hong; JL, Gardea-torresdey; Nanomaterials and the environment: A review for the biennium. *Journal of Hazardous Materials* 186:1-15, 2011.
80. HL, Hooper; K, Jurkschat; AJ, Morgan; J, Bailey; AJ, Lawlor; DJ, Spurgeon; C, Svendsen; Comparative chronic toxicity of nanoparticulate and ionic zinc to the earthworm *Eisenia veneta* in a soil matrix. *Environment International* 37:1111-1117, 2011.
81. H, McShane; M, Sarrazin; JK, Whalen ; WH, Hendershot; GI, Sunahara; Reproductive and behavioral responses of earthworms exposed to nano-sized titanium dioxide in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 31:184-193, 2012.
82. HE, Canas; B, Qi; S, Li; JD, Maul; SB, Cox; S, Das; MJ, Green; Acute and reproductive toxicity of nano-sized metal oxides (ZnO and TiO₂) to earthworms (*Eisenia fetida*). *Journal of Environmental Monitoring* 13:3351-3357, 2011.
83. SW, Kim; SH, Nam; YJ, An; Interaction of silver nanoparticles with biological surfaces of *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicol Environ Safety* 77:64-70, 2012.