شناسایی و مبارزه با رشد جلبکی در منابع آب با استفاده از نانوذرات اکسید روی

مهدی اسکندری[۱]، سعید دهستانی اطهر[۲]، بهرام عبدالهی نژند[۳]، بابک خیاط رستمی[۴]

۱- دکترای مهندسی نانومواد، گروه تکنولوژی نانوذرات، پژوهشکده فراوری مواد معدنی جهاد دانشگاهی واحد تربیت مدرس، تهران، ایران
(نویسنده مسئول) ۸۶۰۱۷۲۳۲ (۰۲۱) msnano1361@yahoo.com
۲- استادیار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۳- دکترای مهندسی نانومواد، گروه تکنولوژی نانوذرات، پژوهشکده فراوری مواد معدنی جهاد دانشگاهی واحد تربیت مدرس، تهران، ایران
۴- دبیر کمیته تحقیقات آب منطقه‌ای اردبیل

(دریافت ۹۳/۲/۱۷ پذیرش ۹۳/۵/۳۰)

چکیده

افزایش غلظت مواد مغذی مانند نیترات و فسفات موجب شکوفایی جلبک در منابع آب می‌شود. این شکوفایی جلبکی باعث تغییر در طعم و بوی آب شده و کیفیت آب را کاهش می‌دهد. در این پژوهش رشد جلبکی در منابع آب (سد یامچی اردبیل) با استفاده از نانو ذرات اکسید روی بررسی شد. بعد از کشت جلبک‌های جمع‌آوری شده از سد یامچی و سپری شدن زمان لازم به‌منظور رشد جلبک، شناسایی جلبک‌ها، با تهیه لام و مشاهده در زیر میکروسکوپ انجام شد. نتایج نشان داد گونه‌های کلادوفورا و اوگلنا در محیط کشت رشد بیشتری داشتند. برای حذف و جلوگیری از رشد جلبک، نانوذرات اکسید روی با استفاده از روش شیمیایی تولید شد. نانوذرات اکسید روی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری و پراش اشعه ایکس مشخصه‌یابی شد. نتایج نشان داد که قطر نانوذرات بین ۱۰ تا ۳۰ نانومتر و فاز نانوذرات اکسید روی هگزاگونال و بدون هیچ ناخالصی است. اثر نانوذرات با غلظت‌های مختلف بین صفر تا ppm ۳ برای جلوگیری از رشد جلبکی مطالعه شد. به‌منظور تعیین دز مهارکننده رشد جلبک‌ها ابتدا از غلظت‌های کم نانوذرات اکسید روی استفاده شد. نتایج نشان داد که در غلظت‌های کمتر از ۱ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی، کاهشی در رشد جلبک‌ها مشاهده نمی‌شود. اما در غلظت‌های بیش از ۱ میلی‌گرم در لیتر، کاهش قابل توجهی در میزان جلبک‌ها مشاهده شد، به‌طوری که در غلظت‌های بالای ۲ میلی‌گرم در لیتر، هیچ‌گونه رشد جلبکی رخ نداد.

واژه‌های کلیدی: رشد جلبکی، نانوذرات ZnO، منابع آب، بیومس

۱- مقدمه

در مناطقی که نور کافی خورشید و مواد مغذی زیاد مانند نیتروژن و فسفر وجود دارد، جلبک‌ها فراوان‌ترین میکرواورگانیسم‌های موجود در منابع آب به‌شمار می‌روند [۱]. جلبک‌ها ارگانیسم‌های ساده، اتوتروفیک، فتوسنتز کننده و دارای کلروفیل هستند و شایع‌ترین دلیل طعم و بوی آب‌های سطحی به‌حساب می‌آیند. بسیاری از جلبک‌ها رنگدانه‌های متفاوتی دارند و بنابراین به رنگ‌های مختلف وجود دارند. برخی از جلبک‌ها لایه بیولوژیکی لزجی تولید می‌کنند که با فرایند تصفیه آب تداخل ایجاد می‌کند. هنگام شکوفایی جلبکی در مخازن، این میکروارگانیسم‌ها با ایجاد کدورت و رنگ و تداخل با فرایندهای انعقاد و ته‌نشینی، سبب گرفتگی شدید صافی‌ها می‌شوند. مواد شیمیایی تولید شده به‌وسیله جلبک‌ها به‌عنوان پیش‌ساز عمل کرده و مشکلات مختلف طعم و بو را به همراه دارند.

از فعالیت‌های متابولیکی طبیعی جلبک‌ها و یا از تجزیه باکتریایی فراورده دفعی جلبک‌ها، متابولیت به‌وجود می‌آید. متیل ایزوبورنئول[1] و ژئوزمین توسط اکتینومیست‌ها و جلبک‌های سبز آبی و ایزوبوتیل متوکسی پارازین[2] به‌وسیله اکتینومیست‌ها تولید می‌شوند. این ترکیبات به علت حساسیت بینی انسان در تشخیص آنها در گستره غلظت ppt برای مصارف آب از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. به‌علاوه جلبک‌های سبزآبی می‌توانند مرکاپتان‌ها (ترکیبات آلی بوزای گوگردی) را نیز تولید کنند [۲].

رشد جلبک در منابع آب در تصفیه آب شرب و استفاده از آن مشکلاتی ایجاد می‌کند. همچنین رشد جلبکی باعث آزادسازی مواد سمی در آب شده که طعم و بوی آب را در فصل تابستان تغییر

[1] Methyl Isoborneol (MIB)
[2] Isobutyl Methoxypyrazine (IMBP)

می‌دهد[۳و۴]. برای جلوگیری از رشد جلبک از مواد مختلفی همچون مس استفاده می‌شود. همچنین در قرن بیستم از پلیمرهای آلی همچون تری‌بوتیل‌تین[1] برای جلوگیری از رشد جلبک در کانال‌های انتقال آب استفاده شده است، اما به‌دلیل سمیت TBT بر روی ماهی‌ها و آبزیان، استفاده از آن در ایالات متحده آمریکا ممنوع شده است[۴]. همچنین برای کنترل جلبک در کانال‌های انتقال آب از پوشش‌های سیمانی حاوی بیوساید استفاده شده است. گونه‌های مختلف شیمیایی در بتن برای جلوگیری از رشد جلبک استفاده شده است. نتایج نشان داده است که از بین این گونه‌ها، برمید آمونیوم و اکسید روی بهترین کاهش رشد جلبک در کانال‌های انتقال آب را داشته‌اند [۵].

فلزاتی همچون روی نیز باعث کشیدگی و نازک شدن سلول جلبک و کاهش کلروفیل-α و کلرفیل-β می‌شوند [۶، ۷ و ۸]. فلز روی در غلظت‌های بالا یک ماده سمی برای آبزیان به‌شمار می‌آید ولی در غلظت‌های پایین، برای تولید اسید نوکلئیک و آنزیم‌ها ضروری به نظر می‌رسد، اما فلز روی جزو فلزات سنگین محسوب شده و باعث پایین آمدن کیفیت آب می‌شود [۹].

اکسید روی با استفاده از خاصیت فتوکاتالیستی یا آزاد شدن یون Zn^{+2} خود می‌تواند باعث غیر فعال شدن دیواره سلولی جلبک شود. در همین راستا هانگ و همکاران با پوشش اکسید روی بر روی آلومینای گاما به‌عنوان فتوکاتالیست از فعالیت سیانوباکترها تا ۹۲ درصد جلوگیری نمودند [۱۰]. همچنین اثرات نانو ذرات اکسید مس، اکسید روی و نقره روی رشد باکتری‌ها، قارچ و جلبک توسط اروجا و همکاران بررسی شده است [۱۱]. نتایج نشان داده است که اثر سمیت نانوذرات اکسید روی بر جلبک‌ها در مقایسه با سایر نانو ذرات مطالعه شده بیشتر است. همچنین آنها نشان دادند که اکسید روی توده و نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های پایین دارای سمیت مشابه با سولفات روی نسبت به جلبک *سابکا پتینا سودوکریچ نریلا*[2] است. در غلظت‌های پایین، نانوذرات اکسیدروی به‌طور خیلی کم در آب قابل حل است که باعث آزاد شدن یون Zn^{2+} شده و این یون‌ها باعث غیر فعال شدن سلول جلبک و عدم رشد آن می‌شوند [۱۱]. نانو ذرات اکسید روی کاهش خوبی در رشد میکروجلبک‌های تک سلولی از خود نشان می‌دهند. کمینه غلظت مورد استفاده برای عدم رشد میکروجلبک‌های تک سلولی حدود ۱۰۰ میلی‌مولار است [۱۲]. پژوهش‌های انجام شده بر روی مژه‌داران[3] نشان داده است که اثر سمیت نانوذرات اکسید روی به‌طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از اثر سمیت نانوذرات اکسید مس است[۱۳].

بررسی‌های انجام شده در زمینه جلوگیری از رشد جلبک با استفاده از نانوذرات بسیار اندک است و بیشتر در سال‌های اخیر انجام شده است و هنوز تحقیقات در این زمینه ادامه دارد.

در این پژوهش با تولید نانوذرات اکسید روی و استفاده از غلظت‌های حدود ۱تا ۲ میلی‌گرم در لیتر، از رشد جلبک‌های سبز کلادوفورا[4] و اوگلنا[5] در آب جلوگیری شد. نانوذرات اکسید روی در آب باعث تخریب سلولی جلبک شده و از رشد آن جلوگیری می‌کند.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تولید نانوذرات اکسید روی

برای تولید نانوذرات اکسید روی از استات روی و آب به‌عنوان پیش‌ماده و حلال استفاده شد. روش تولید نانوذرات اکسید روی با روش رسوب‌گذاری شیمیایی انجام می‌شود [۱۴]. برای انجام کار ابتدا مقدار مشخصی از استات روی در حلال آب حل و روی همزن مغناطیسی با دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرا داده شد تا محلولی شفاف حاصل شود. بعد از گذشت نیم ساعت مقداری اتیلن گلیکول برای جلوگیری از کلوخه شدن نانوذرات به محلول اضافه شد و واکنش تا جایی که یک دهم از محلول اولیه باقی بماند، ادامه یافت. سپس محلول باقیمانده در دمای ۱۱۰درجه سلسیوس در خشک‌کن به‌مدت ۱۲ ساعت خشک شد. نمونه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. در پایان، نمونه‌های به‌دست آمده با استفاده از دستگاه‌های مختلف از قبیل میکروسکوپ الکترونی عبوری[6] و پراش اشعه ایکس[7] مشخصه‌یابی شدند.

۲-۲- نمونه‌برداری و شناسایی جلبک

به‌منظور شناسایی و تشخیص جلبک‌های موجود، در خرداد ۱۳۸۹ عملیات نمونه‌برداری از سد یامچی اردبیل انجام شد. نمونه‌ها از چند نقطه و در اعماق ۲۰ سانتی‌متری زیر سطح آب برداشت شدند. جلبک‌های چسبیده به دیواره کانال نیز توسط تیغه فلزی تراشیده و از سطح دیواره‌ها جمع شدند.

۲-۳- شرایط کشت جلبک‌ها

در این پژوهش برای رشد جلبک از محیط کشت بلدبازال اصلاح

[1] Tributyltin (TBT)
[2] Pesudokirchneriella Subcapitata
[3] Ciliata
[4] Cladophora
[5] Euglena
[6] Transmission Electron Microscape (TEM)
[7] X-ray Diffraction (XRD)

شده استفاده شد[۱۵]. در جدول ۱ ترکیب اجزای محیط کشت و مقادیر آن نشان داده شده است.

محلول‌های ذخیره هر ماکرونوترینت که در جدول بیان شده است، در غلظت‌های ۱۰ برابر تهیه شد و ۱ میلی‌لیتر از هر محلول ذخیره به ۱ لیتر محیط کشت اضافه شد.

به‌منظور بهینه کردن شرایط رشد جلبک و فراهم کردن دما و نور استاندارد مورد نیاز، از یک هود آزمایشگاهی استفاده شد.

با سه عدد لامپ مهتابی میزان نور مورد نیاز رشد جلبک‌ها (۳کیلو لوکس) فراهم شد. این سیستم نوردهی به یک تایمر مجهز بود که زمان روشنایی-خاموشی ۱۲ ساعته را فراهم می‌نمود. تنظیم به گونه‌ای انجام شد که ساعات خاموشی در شب و ساعات روشنایی در روز باشد.

سیستم تنظیم دما شامل دماسنج، کنداکتور و فن هیتر بود. برای کشت جلبک‌ها از دمای ۲۹ درجه سلسیوس استفاده شد. نمونه‌های کشت داده شده به مدت ۲۵ تا ۳۰ روز در این شرایط انکوبه شدند و سپس مراحل شناسایی و تشخیص جلبک‌ها انجام شد.

جدول۱- ترکیب محیط کشت بلدبازل

مواد	غلظت
$NaNO_3$	۲/۹mM
$MgSO_4$	۰/۳mM
NaCl	۰/۴۳mM
K_2PHO_4	۰/۴۳mM
KH_2PO_4	۱/۲۹mM
$CaCl_2, 7H_2O$	۳۰/۷mM
$MnCl_2, 4H_2O$	۷/۳µM
MoO_3	۴/۹µM
$CuSO_4. 5H_2O$	۸/۳µM
$CoNO_3$	۱/۷µM
H_3BO_3	۰/۱۸mM
EDTA	۰/۱۷mM
KOH	۰/۵۵mM
$FeSO_4, 7H_2O$	۱۷/۹µM
H_2SO_4	۱۰µM

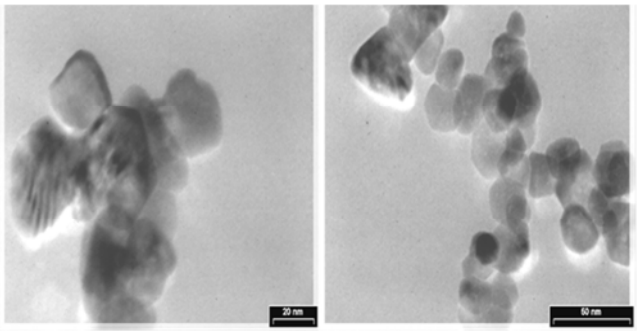
۲-۴- بررسی اثر بازدارندگی نانوذرات اکسید روی بر رشد جلبک‌ها

به‌منظور بررسی میزان رشد جلبک در غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی، از آزمایش منحنی رشد جلبک استفاده شد. در این آزمایش میزان ۰/۴ گرم توده مرطوب جلبک به‌عنوان بیومس اولیه در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتر که حاوی ۱۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت بلدبازال بودند، ریخته شد و سپس در زمان ثابت ۳۰ روز رشد جلبک بررسی شد. به‌منظور بررسی میزان رشد جلبک، از اندازه‌گیری وزن مرطوب بیومس بعد از سانتریفوژ کردن جلبک‌های رشد کرده، استفاده شد. نمونه‌های موجود در ارلن‌ها، درون ویال‌های سانتریفوژ ریخته شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۴۰۰۰ rpm برای جداسازی کامل محلول از جلبک، سانتریفیوژ شد. برای هر غلظت سه تکرار صورت گرفت و میانگین آنها برای ترسیم منحنی رشد جلبک استفاده شد. تعداد نمونه‌ها در این بخش با سه بار تکرار، ۴۲ نمونه بود.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مشخصه‌یابی نانوذرات اکسید روی

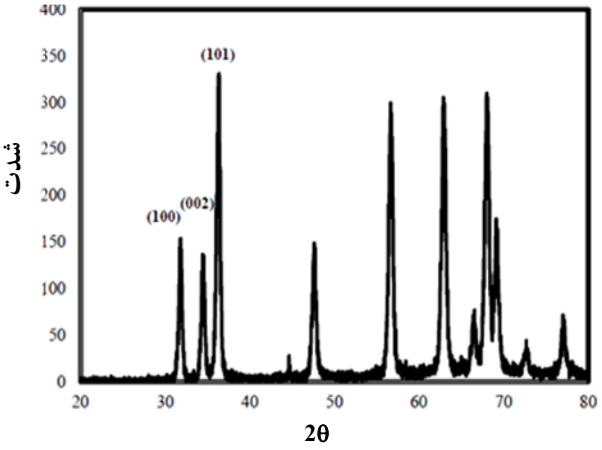
تصویر TEM نانوذرات اکسید روی در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود قطر نانوذرات در حدود ۱۰ تا ۳۰ نانومتر و مورفولوژی نانوذرات به صورت شش وجهی است.



شکل۱- تصاویر TEM نانوذرات اکسیدروی

برای شناسایی و فاز نانوذرات تولیدی از XRD استفاده شد. در پراش اشعه ایکس یک پرتو موازی شده از پرتوهای اشعه ایکس با طول موج بین ۲ تا ۷ آنگستروم روی نمونه تابیده می‌شود و در نمونه بر حسب قانون براگ، پراش اتفاق می‌افتد. این الگوی پراش برای مشخص کردن فازهای کریستالی نمونه و اندازه‌گیری خصوصیات ساختاری آنها استفاده می‌شود. پراش اشعه ایکس یک روش غیر مخرب است و به آماده‌سازی نمونه نیاز ندارد.

در شکل۲ نمودار پراش اشعه ایکس نانوذرات اکسید روی نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که تمامی پیک‌ها مطابق با فاز اکسید روی (شش گوشه متقارن) است و هیچ پیک اضافی مشاهده نمی‌شود. همچنین پهنای پیک‌ها نسبت به حالت بالک اکسید روی



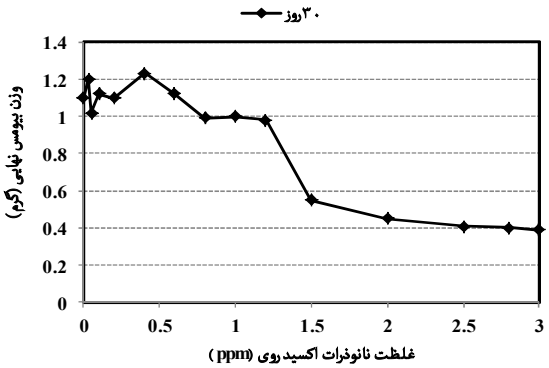
شکل۲- نمودار XRD نانوذرات اکسیدروی

پهن‌تر است. صفحات بلوری مربوط به پیک‌های اصلی بر روی آنها در نمودارهای پراش اشعه ایکس مشخص شده‌اند.

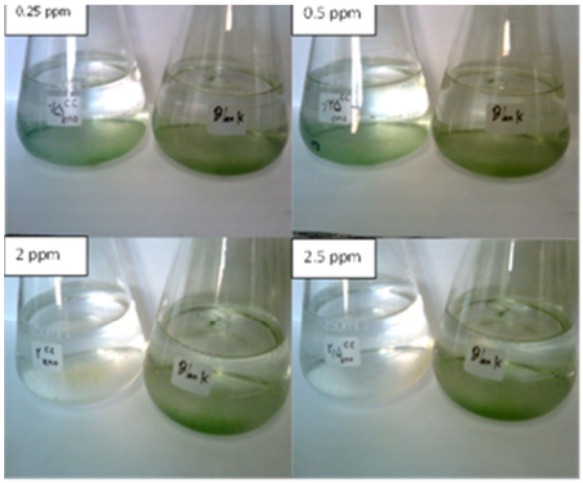
۳-۲- جلوگیری از رشد جلبک با نانوذرات اکسیدروی

همان طور که از شکل ۳ پیداست، با افزایش غلظت نانوذرات، رشد جلبک کاهش یافته و در غلظت‌های بیشتر از ۲/۵ ppm جلبک‌ها تجزیه شده و از وزن بیومس اولیه (۰/۴ گرم) کم شده است. فعالیت سمیت نانوذرات اکسید روی نسبت به سلول جلبک‌ها به‌دلیل تولید پراکسید هیدروژن از سطح نانوذرات در مجاورت آب است. اکسید روی در مجاورت نور مرئی یا ماورای بنفش فعال شده، می‌تواند تولید جفت الکترون حفره نماید. حفره‌ها H_2O را به OH^- و H^+ تبدیل می‌کنند. سپس آن‌ها با یون هیدروژن واکنش داده و تولید پراکسید هیدروژن می‌نمایند. پراکسید هیدروژن تولیدی می‌تواند غشای سلولی را سوراخ کرده و باعث مرگ سلول شود[۱۶].

در شکل ۴ مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت نانوذرات اکسیدروی، غلظت کلروفیل و سبزی نمونه‌ها کاهش یافته است که دلالت بر کاهش رشد جلبکی دارد.



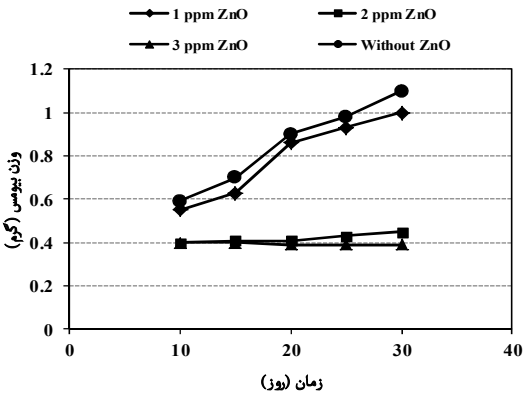
شکل۳- نمودار رشد جلبک بر حسب غلظت نانوذرات اکسید روی



شکل۴- تصاویر روند کاهش رشد جلبک با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی

به‌منظور بررسی اثر زمان بر رشد جلبک، از غلظت ثابت ppm ۳، ۲ و ۱ نانوذرات اکسید روی و بدون نانوذرات استفاده شد. مقدار بیومس اولیه ۰/۴ گرم بود. زمان‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ روز برای رشد جلبک در نظر گرفته شد.

همان‌گونه که در شکل ۵ مشخص است در غلظت‌های پایین‌تر از ۲ppm نانوذرات اکسید روی، با گذشت زمان، مقداری جلبک رشد کرده و مقدار بیومس اولیه افزایش یافته است. اما در غلظت‌های بالای ۲ppm با گذشت زمان نه تنها رشد جلبک‌ها متوقف شده بلکه جلبک‌ها تجزیه شده‌اند. بنابراین با غلظت‌های بیشتر از ۲ppm می‌توان از رشد جلبک در آب جلوگیری نمود. تحقیقات نشان داده است که نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های زیر ۳ppm، اثر سمیتی بر روی آبزیان نداشته است، اما در غلظت‌های بالای ۳ppm باعث مسمومیت آبزیان شده که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد [۱۷].



شکل۵- روند رشد جلبک بر حسب زمان در غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش که برای شناسایی و مبارزه با جلبک‌های منابع آب با استفاده از نانوذرات اکسید روی (مطالعه موردی سد یامچی اردبیل) انجام شد، مشخص شد که گونه‌های *کلادوفورا* و *اوگلنا* فراوانی بیشتری دارند. از سایر گونه‌های موجود در نمونه‌ها که به تعداد کمتری مشاهده شدند، می‌توان به *دیاتومه* و *ولوکس* اشاره نمود.

به‌منظور تعیین دز مهار کننده رشد جلبک‌ها ابتدا از غلظت‌های کم نانوذرات استفاده شد. نتایج نشان داد که در غلظت‌های کمتر از ۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی، کاهشی در رشد جلبک‌ها مشاهده نمی‌شود. در غلظت‌های بیش از ۱ میلی‌گرم در لیتر، کاهش قابل توجهی در میزان رشد جلبک‌ها مشاهده شد؛ به‌طوری که در غلظت‌های ۱ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر، به تدریج رشد جلبک‌ها کاهش قابل توجهی داشت. اما در غلظت‌های بالای ۲ppm، با گذشت زمان نه تنها رشد جلبک متوقف شد، بلکه تجزیه جلبک‌ها اتفاق افتاد. بنابراین با توجه به نتایج ذکر شده در بالا، می‌توان برای جلوگیری از رشد جلبک در منابع آب و سدهای انتقال آب از نانوذرات اکسید روی استفاده نمود و کیفیت آب را افزایش داد.

۵- قدردانی

از کمیته تحقیقات شرکت آب منطقه‌ای اردبیل به دلیل حمایت مالی از این تحقیق کمال تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

۶- مراجع

1. Grant, W.D., and Tindall, B.J. (1986). "The alkaline saline environment." *In Microbes in extreme environments*, Academic Press, London.
2. Qasim, S.R., Motley, E.D., and Zhu, G. (2000). *Water works engineering: Planning, design and operation*, Prentice-Hall, New Jersey.
3. Carmichael, W.W. (1992). "A review, cyanobacteria secondary metabolites –the cyanotoxins." *J. Appl Bacteriol*, 72, 445-459.
4. Fleming, L.E., Rivero, C., Burns, J., Williams, Ch., Ean, A.J., Shea, K.A., and Stinn, J. (2002). "Blue green algal (cyanobacterial) toxins, surface drinking water, and liver cancer in Florida." *Harmful Algae*, 1 (2), 157-168.
5. Yonehara, Y. (2000). "Recent topics on marine antifouling coatings." *Bull. Soc. Sea Water Sci. Jpn*., 54, 7-12.
6. Kupper, H., Setlik, I.M., Kupper, F.C., and Prasil, O. (2002). "Heavy metal-induced inhabitation of photosynthesis: Target of in vivo heavy metal chlorophyll formation." *J. Phycol*., 38, 429-241.
7. Villadaa, L. G., Ricob, M., Altamiranoa, M., Sanchez-Martına, L., Lopez-Rodasa V., and Costasa E. (2004). "Occurrence of copper resistant mutants in the toxic cyanobacteria Microcystis aeruginosa: Characterization and future implications in the use of copper sulphate as algaecide." *Water Res*., 38, 2207-2213.
8. Paulsson, M., Nystrom, B., and Hans, B. (2000). "Long-term toxicity of zinc to bacteria and algae in periphyton communities from the river Gota Alv, based on a microcosm study." *Aquat Toxicol*., 47, 243-257.
9. Powell, C. (1996). "Disease doctor – how can algae buildup on porous surfaces in greenhouses be removed?." *Greenhouse Business*, 41pp.
10. Huang, W., Lin, T., and Shin, F. (2011). "Photocatalytic inactivation of cyanobacteria with ZnO/g-Al_2O_3 composite under solar light." *J. Environ. Biol*., 32, 301-307.
11. Aruoja, V., Dubourguier, C., Kasemets, K., and Kahru, A. (2009). "Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO_2 to microalgae Pseudokirchneriella subcapitata." *Science of the Total Environment*, 407, 1461-1468.
12. Aravantinou, A. F., Tsarpali, V., Dailianis, S., and Manaritotis, I.D. (2013). "Zinc Oxide (ZnO) nanoparticles toxic potency on different microalgae species." *Geophysical Research*, 15, 11084-11084.

13. Mortimer, M., Kasemets, K., and Kahru, A. (2010). "Toxicity of ZnO and CuO nanoparticles to ciliated protozoa Tetrahmena thermophila." *Toxicol*, 269, 182-189.

14. Alum, A., Rashid, A., Mobasher, B., and Abbaszadegan, M. (2008). "Cement-based biocide coatings for controlling algal growth in water distribution canals." *Cement and Concrete Composites Agricultural*, 30, 839-847.

15. Mane, P.C., Bhosle, A.B., Jangam, CM., and Vishwakrama, C.V. (2011). "Bioadsorption of selenium by pretreated algal biomass." *J. of Pelagia Research Library*, 2, 202-207.

16. Eskandari, M., and Haghighi, N., Ahmadi, V., Haghighi, F., and Mohammadi, Sh.R. (2011). "Growth and investigation of antifungal properties of ZnO nanorod arrays on the glass." *Physica B*., 406, 112-114.

17. Yu L.P., Fang, T., Xiong, D.W., Zhu, W.T., and Sima, X.F. (2011). "Comparative toxicity of nano-ZnO and bulk ZnO suspensions to zebrafish and the effects of sedimentation, OH production and particle dissolution in distilled water." *J. Environ. Monit*., 13, 1975-1982.