



Vigilância Sanitária em Debate:  
Sociedade, Ciência & Tecnologia  
E-ISSN: 2317-269X  
visaemdebate@incqs.fiocruz.br  
Instituto Nacional de Controle e  
Qualidade em Saúde  
Brasil

Albergaria, José Tomás; Antonius Nouws, Hendrikus Petrus; Delerue-Matos, Cristina  
Maria

Ecotoxicidade de nanopartículas de ferro zerovalente – uma revisão  
Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia, vol. 1, núm. 4,  
noviembre, 2013, pp. 37-41  
Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=570561858006>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

**ARTIGO**

## Ecotoxicidade de nanopartículas de ferro zerovalente - uma revisão

**José Tomás Albergaria**

*Requinte - Instituto*

*Superior de Engenharia do  
Porto, Instituto Politécnico  
do Porto. Porto, Portugal*

**Hendrikus Petrus  
Antonius Nouws**

*Requinte - Instituto*

*Superior de Engenharia do  
Porto, Instituto Politécnico  
do Porto. Porto, Portugal*

**Cristina Maria Delerue-  
Matos**

*Requinte - Instituto*

*Superior de Engenharia do  
Porto, Instituto Politécnico  
do Porto. Porto, Portugal*

*E-mail: cmm@isep.ipp.pt*

### RESUMO

A utilização de nanopartículas de ferro zerovalente na remediação ambiental de águas e solos tem vindo a aumentar, suportado na maior reatividade e mobilidade destas partículas quando comparadas com outras de tamanho macro e micrométrico. A introdução destas partículas no ambiente tem levantado preocupações relativas ao destino e ao efeito em ambientes aquáticos e terrestres. Um maior conhecimento destas questões permitirá uma melhor compreensão do processo de remediação e das transformações a longo prazo e o impacto das nanopartículas de ferro zerovalente nos diferentes ecossistemas, permitindo uma aplicação mais segura e eficiente.

Este trabalho apresenta o estado atual do conhecimento sobre os efeitos tóxicos das nanopartículas de ferro zerovalente em diferentes organismos nas várias fases da cadeia alimentar. Concluiu-se que os estudos realizados são insuficientes e que na sua maioria apontam no sentido do impacto negativo daquelas nanopartículas em bactérias, invertebrados aquáticos, organismos terrestres e em testes de germinação. Esta informação reforça a necessidade da realização de estudos complementares que especifiquem a concentração das nanopartículas de ferro zerovalente que se tornam tóxicas para organismos-alvo importantes; e a avaliação dos efeitos de nanopartículas revestidas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Nanopartículas de Ferro Zerovalente; Bactérias; *Daphnia Magna*; Minhucas; Testes de Germinação.



## Introdução

Nas últimas décadas, o uso de nanomateriais tornou-se cada vez mais importante na indústria, na medicina e no consumo<sup>1</sup> diário, e, mais recentemente, em remediação ambiental<sup>2</sup>. Isto levou à introdução de quantidades significativas de diferentes tipos de nanomateriais em todos os compartimentos ambientais: solos, sistemas aquáticos e ar. Nos solos, as nanopartículas podem ser introduzidas tanto diretamente, por meio de fertilizantes e produtos utilizados para a proteção das plantas ou de suspensões líquidas utilizadas em locais contaminados, ou indiretamente, por meio da aplicação de lamas ou biossólidos no solo. A presença de nanopartículas em sistemas aquáticos é principalmente devida à descarga de efluentes provenientes de estações de tratamento de águas residuais, descargas industriais e arrastamento superficial de águas<sup>1</sup>. As erupções vulcânicas, processos de combustão e emissões industriais são algumas das fontes de liberação de nanopartículas no ar<sup>3</sup>.

Após a introdução de nanopartículas no meio ambiente, as partículas sofrem várias alterações que envolvem processos biológicos, físicos e químicos, o que torna difícil quantificar a sua prevalência e avaliar o seu grau de ecotoxicidade. Em particular, estas alterações incluem interações químicas (por exemplo, reações redox) e aglomeração<sup>4</sup>. O tipo e extensão destes processos dependem tanto das propriedades das nanopartículas como das do meio receptor. Por exemplo, em sistemas aquosos, a dureza, a carência bioquímica de oxigênio, o pH, a alcalinidade e o teor de matéria orgânica são alguns dos parâmetros que influenciam o comportamento das nanopartículas. Outra dificuldade está relacionada com a quantificação das concentrações vestigiais de nanopartículas no meio ambiente principalmente porque não existem quaisquer métodos específicos padronizados ou protocolos, nem mesmo materiais de referência certificados para ensaios com nanomateriais<sup>4,5</sup>. No entanto, a comunidade científica está tentando adotar as melhores metodologias para a realização de tais estudos.

Todos esses factos contribuem para o aumento das preocupações sobre o destino e os efeitos desses materiais no meio ambiente. Isso incentiva e pressiona a comunidade científica no sentido de dar resposta a estas questões e avaliar o real impacto do uso dos nanomateriais. Peralta-Videa et al.<sup>4</sup> reforçaram essa ideia através do estudo dos vários trabalhos realizados entre 2008 e 2010 que apontam para a incerteza que existe sobre a ecotoxicidade dos nanomateriais e para a necessidade de obter mais informações sobre o manuseamento adequado desses materiais, a fim de prevenir o impacto no ambiente e na saúde pública após a exposição a longo prazo.

As nanopartículas de ferro zerovalente (nZVIs) constituem um dos materiais mais comuns e usados em nanorremediação devido à sua elevada área superficial e reatividade, reagindo com diversos contaminantes tais como metais<sup>6</sup>, hidrocarbonetos halogenados<sup>7</sup>, bifenilos policlorados (PCBs)<sup>8</sup> e produtos farmacêuticos. As elevadas eficiências obtidas em recentes testes à escala laboratorial e em estudos à escala piloto, indicam

que o uso das nZVIs é extremamente promissor em termos de remediação ambiental<sup>9-11</sup>. No entanto, como com os outros nanomateriais, várias preocupações estão a ser levantadas sobre o impacto e ecotoxicidade dos nZVIs.

O objetivo desta revisão é apresentar o estado atual do conhecimento sobre a toxicidade das nZVIs em bactérias, invertebrados aquáticos, organismos terrestres, e em testes de germinação.

### Bactérias

As bactérias, juntamente com as algas, estão na base da cadeia alimentar aquática, sendo o alimento de crustáceos, tais como as dáfnias, as quais por sua vez, são consumidas pelos peixes. Testes *in vitro* mostraram que as nZVIs são bactericidas para determinadas culturas aquosas de *Escherichia coli* e *Bacillus nealsonii*<sup>12,13,14</sup>. Em ambientes contaminados, os consórcios microbianos nativos são geralmente inibidos pela presença de concentrações significativas de contaminantes. Consequentemente, a aplicação de nZVIs deve ser efetuada de modo cuidadoso de forma a não aumentar ainda mais a ecotoxicidade do meio, para não prejudicar a capacidade de biodegradar o contaminante remanescente após a remediação química.

Certos estudos em matrizes ambientais mostraram resultados contraditórios. Fajardo et al.<sup>12</sup> observaram que as nZVIs tiveram um impacto reduzido sobre a viabilidade celular microbiana e na atividade biológica em solos de *Klebsiella planticola* e *Bacillus nealsonii*, e concluíram que a toxicidade das nZVIs poderia ser dependente da dose aplicada, e das espécies microbianas presentes. Kirschling et al.<sup>10</sup> observaram que as nZVIs não tiveram qualquer efeito na abundância de bactérias no solo e que as populações bacterianas aumentaram após a aplicação de nZVIs revestidas com um poliaspartato biodegradável. Isto pode indicar que o uso de revestimento nas nZVIs pode reduzir a sua toxicidade. Por outro lado, Barnes et al.<sup>15</sup> observaram um impacto negativo das nZVIs sobre a capacidade de uma comunidade bacteriana indígena em degradar o tricloroetileno (TCE). Este impacto está relacionado com a dose aplicada, sendo que a taxa de degradação biológica começou a diminuir para concentrações de nZVI acima de 0.01 gL<sup>-1</sup> e cessou para concentrações acima de 0.3 gL<sup>-1</sup>.

Esses estudos indicam que há um possível impacto das nZVIs em comunidades bacterianas e que esse impacto depende da dose aplicada. Por isso, as nZVIs podem ser aplicadas ao solo, mas a sua dosagem não deverá exceder um valor a partir do qual, passa a ser prejudicial para as bactérias. Por outro lado, o uso de nZVIs revestidas pode aumentar a eficiência da remediação, contudo, não é certo que estes revestimentos possam permitir o uso de doses de nZVI mais elevadas sem causar um efeito negativo sobre as bactérias. Este é uma área de investigação que deve ser mais explorada, a fim de alargar a aplicabilidade das nZVIs.



## Invertebrados aquáticos

Os invertebrados aquáticos são comumente afetados pela maior parte dos contaminantes libertados no ambiente. Esta é uma das razões pela qual estes organismos são importantes e apropriados para testes de ecotoxicidade<sup>16</sup>. Para futuras investigações sobre o comportamento e biodisponibilidade das nanopartículas em ambientes aquáticos, os testes com invertebrados devem ser usados para aumentar o conhecimento da toxicologia daqueles materiais. De acordo com Sanchez et al.<sup>2</sup> e La Farre et al.<sup>17</sup>, a *Daphnia magna* é utilizada na maioria dos testes para avaliar a ecotoxicidade das nanopartículas.

Vários estudos mostram que *Daphnia magna* é geralmente muito sensível à presença de diversas nanopartículas; a exposição contínua a estes materiais conduz à sua imobilização ou mesmo à morte dos organismos<sup>18</sup>. No entanto, existem poucos estudos sobre a ecotoxicidade das nZVs. Marsalek et al.<sup>19</sup> estudaram a possível aplicação das nZVs para destruir e impedir a formação de blooms de cianobactérias na água, de uma forma simples e ambientalmente benigna. Eles registraram para as cianobactérias um EC<sub>50</sub> de 50 mgL<sup>-1</sup>, e um EC<sub>50</sub> superior a 1000 mgL<sup>-1</sup> para a *Daphnia magna*. Keller et al.<sup>20</sup> mostraram que a sobrevivência de *Daphnia magna* foi drasticamente influenciada pela presença de nZVs comerciais (Nanofer 25S e Nanofer STAR).

Esses escassos estudos indicam que as nZVs afetam significativamente as comunidades de *Daphnia magna* e podem até levar à sua morte. Considerando que o uso de nZVs para remediação ambiental está direcionado principalmente para águas contaminadas, estes resultados são muito importantes e reforçam a necessidade de estudos mais detalhados e estruturados. De referir que a maioria dos estudos consideram o impacto das nZVs em *Daphnia magna*, na ausência de contaminantes. No entanto, as nZVs são aplicadas em ambientes contaminados, e, portanto, os futuros estudos devem avaliar o impacto dos contaminantes na *Daphnia magna*, bem como o impacto adicional causado pela aplicação das nZVs.

## Organismos terrestres

As minhocas são organismos comuns no solo e desempenham um papel importante e relevante no ecossistema do solo. Por essa razão elas são utilizadas como organismos-teste nos estudos de ecotoxicidade no solo<sup>21</sup>, e são ainda usadas para avaliar a biodisponibilidade de contaminantes em solos<sup>22</sup>. Devido às limitações na obtenção de conclusões sólidas sobre a validade destes testes, estes organismos são geralmente aplicados a situações específicas em que as contaminações ocorrem e onde a avaliação é necessária<sup>2</sup>. Alguns estudos avaliaram a toxicidade de diferentes nanopartículas (por exemplo, óxido de alumínio<sup>23</sup>, prata<sup>24</sup> e titânio<sup>25</sup>) em solos; no entanto, tanto quanto se sabe, apenas um estudo se centrou sobre a toxicidade das nZVs em minhocas. El-Temsah e Joner<sup>26</sup> avaliaram os efeitos ecotoxicológicos das nZVs revestidas com carboximetil celulose em *Eisenia fetida* e *Lumbricus rubellus*. Este trabalho mostrou o impacto negativo das nZVs em ambas as espécies de minhocas, afetando a sua reprodução, para uma concen-

tração de nZVI de 100 mgKg<sup>-1</sup> e levando à diminuição do peso das minhocas e a um aumento da sua taxa de mortalidade para concentrações acima de 500 mgKg<sup>-1</sup>.

A presente escassez de conhecimento dificulta uma avaliação rigorosa do impacto da nZVs em organismos terrestres. No entanto, os estudos realizados indicam que, acima de concentrações específicas de nZVI, a reprodução dos organismos, peso e as taxas de mortalidade são afetadas. Isto evidencia a necessidade de mais estudos e, como afirmado anteriormente, tal investigação deverá avaliar o impacto relativo da introdução das nZVs em ambientes contaminados.

## Testes de germinação

Os testes de germinação são ensaios de ecotoxicidade de curta duração que utilizam plantas para a avaliação dos efeitos de toxicidade aguda. Nestes ensaios, sementes de uma determinada planta são lançadas numa pequena porção de um solo contaminado representativo e, após um período de incubação definido, o número de sementes que germinam com sucesso é contado. Os resultados são comparados com os obtidos num solo não contaminado de composição e propriedades semelhantes. Este “índice de germinação” é geralmente utilizado como um indicador da fitotoxicidade em solos<sup>27</sup>.

*Lactuca sativa*, a alface comum, é, provavelmente, a planta que é mais frequentemente usada para este tipo de teste, devido à sua alta sensibilidade a diferentes contaminantes. Outras plantas são também utilizadas, como o repolho (*Brassica oleracea L.*), o milho (*Zea mays*) e a soja (*Glycine max*), mas ainda não há um consenso sobre a planta mais adequada para tal teste<sup>28</sup>.

Estes testes são comumente utilizados para solos contaminados com diversos contaminantes, tais como metais<sup>29</sup>, hidrocarbonetos de petróleo<sup>30</sup> ou produtos farmacêuticos<sup>31</sup>. Poucos estudos foram realizados com nanomateriais<sup>32,33,34</sup>. Barrena et al.<sup>32</sup> estudaram a toxicidade de nanopartículas de ouro, prata e óxido de ferro ( $Fe_3O_4$ ) em pepino (*Cucumis sativus*) e alface (*Lactuca sativa*). Ravindran et al.<sup>33</sup> realizaram testes de germinação com *Lycopersicum esculentum* e *Zea mays* para avaliar a ecotoxicidade de nanopartículas de prata e iões de prata. Os resultados deste estudo mostraram um maior efeito tóxico relacionado com as nanopartículas de prata do que com os iões de prata; no entanto, quando as nanopartículas foram suplementadas com albumina de soro bovino, ocorreu uma redução dos efeitos adversos.

El-Temsah et al.<sup>35</sup> estudaram a toxicidade das nZVs e outros três tipos de nanopartículas de prata em testes de germinação com azevém, cevada e linho. Foram observados efeitos inibitórios em sistemas aquáticos para concentrações de nZVI da ordem de 250 mgL<sup>-1</sup>, enquanto as concentrações na ordem de 1000-2000 mgL<sup>-1</sup> inibiram completamente a germinação. Jiamjitpanich et al.<sup>36</sup> estudaram a tolerância de *Panicum maximum* (capim roxo da guiné) e *Helianthus annuus* (girassol comum) num solo contaminado com explosivos (TNT) e outro solo contaminado com nZVI. *Panicum maximum* mostrou mais tolerância do que *Helianthus annuus* à presença de nZVs.



Este tipo de teste não só indica o impacto das nZVIs no processo de germinação, mas também pode fornecer informações sobre a captação de nZVIs pelas raízes e pelas folhas da planta. Este conhecimento permite uma avaliação mais completa e minuciosa do impacto das nZVIs nas plantas. No entanto, há alguma evidência que indica que a germinação de algumas plantas é afetada pela presença de nZVIs. Ou seja, a fim de proteger as plantas, devem ser aplicadas suspensões de nZVI nos solos através de injeções de nanopartículas mas em profundidade.

## Conclusões

A plena aceitação das nZVIs como um agente de remediação depende de vários fatores. Um dos fatores mais importantes refere-se ao destino e impacto destes nanomateriais sobre os ecossistemas em que são aplicados. A literatura existente é claramente insuficiente e, em alguns casos, os resultados são contraditórios. No entanto, a maioria dos estudos aponta para os efeitos tóxicos das nZVIs em todos os organismos testados. Com base nos estudos apresentados, também é possível concluir que a toxicidade das nZVIs depende da concentração e que, quando são utilizadas nZVIs revestidas, a sua ecotoxicidade diminui. No entanto, estas e outras conclusões podem ser apenas corroboradas por estudos adicionais.

## Agradecimentos

Este trabalho foi apoiado financeiramente pela “Fundação para a Ciência e Tecnologia” (FCT) através dos projetos PEst-C/EQB/LA0006/2013, PTDC/ECM/103141/2008 e PTDC/AAG-TEC/2692/2012.

## Referências

1. Batley GE, Kirby JK, McLaughlin MJ. Fate and Risks of Nanomaterials in Aquatic and Terrestrial Environments. *Accounts Chem Res.* 2013;46(3):854-62.
2. Sanchez A, Recillas S, Font X, Casals E, Gonzalez E, Puntes V. Ecotoxicity of, and remediation with, engineered inorganic nanoparticles in the environment. *Trac-Trends Anal Chem.* 2011;30(3):507-16.
3. Farre M, Sanchis J, Barcelo D. Analysis and assessment of the occurrence, the fate and the behavior of nanomaterials in the environment. *Trac-Trends Anal Chem.* 2011;30(3):517-27.
4. Peralta-Videa JR, Zhao LJ, Lopez-Moreno ML, de la Rosa G, Hong J, Gardea-Torresdey JL. Nanomaterials and the environment: A review for the biennium 2008-2010. *J Hazard Mater.* 2011;186(1):1-15.
5. Gottschalk F, Sonderer T, Scholz RW, Nowack B. Modeled Environmental Concentrations of Engineered Nanomaterials ( $TiO_2$ ,  $ZnO$ , Ag, CNT, Fullerenes) for Different Regions. *Environ Sci Technol.* 2009;43(24):9216-22.
6. Zhu HJ, Jia YF, Wu X, Wang H. Removal of arsenic from water by supported nano zero-valent iron on activated carbon. *J Hazard Mater.* 2009;172(2-3):1591-6.
7. Wang Q, Jeong SW, Choi H. Removal of trichloroethylene DNAPL trapped in porous media using nanoscale zerovalent iron and bimetallic nanoparticles: Direct observation and quantification. *J Hazard Mater.* 2012;213:299-310.
8. Petersen EJ, Pinto RA, Shi XY, Huang QG. Impact of size and sorption on degradation of trichloroethylene and polychlorinated biphenyls by nano-scale zerovalent iron. *J Hazard Mater.* 2012;243:73-9.
9. Machado S, Stawiński W, Slonina P, Pinto AR, Grosso JP, Nouws HPA, Albergaria JT, Delerue-Matos C. Application of green zero-valent iron nanoparticles to the remediation of soils contaminated with ibuprofen. *Sci Total Environment.* 2013;461-462:323-9.
10. Kirschling TL, Gregory KB, Minkley EG, Lowry GV, Tilton RD. Impact of Nanoscale Zero Valent Iron on Geochemistry and Microbial Populations in Trichloroethylene Contaminated Aquifer Materials. *Environ Sci Technol.* 2010;44(9):3474-80.
11. Fang ZQ, Qiu XQ, Huang RX, Qiu XH, Li MY. Removal of chromium in electroplating wastewater by nanoscale zero-valent metal with synergistic effect of reduction and immobilization. *Desalination.* 2011;280(1-3):224-31.
12. Fajardo C, Ortiz LT, Rodriguez-Membibre ML, Nande M, Lobo MC, Martin M. Assessing the impact of zero-valent iron (ZVI) nanotechnology on soil microbial structure and functionality: A molecular approach. *Chemosphere.* 2012;86(8):802-8.
13. Auffan M, Achouak W, Rose J, Roncato MA, Chanéac C, Waite DT, Masion A, Woicik JC, Wiesner MR, Bottero JY. Relation between the redox state of iron-based nanoparticles and their cytotoxicity toward *Escherichia coli*. *Environ Sci Technol.* 2008;42(17):6730-5.
14. Lee C, Kim JY, Lee WI, Nelson KL, Yoon J, Sedlak DL. Bactericidal effect of zero-valent iron nanoparticles on *Escherichia coli*. *Environ Sci Technol.* 2008;42(13):4927-33.
15. Barnes RJ, Riba O, Gardner MN, Singer AC, Jackman SA, Thompson IP. Inhibition of biological TCE and sulphate reduction in the presence of iron nanoparticles. *Chemosphere.* 2010;80(5):554-62.
16. Baun A, Hartmann NB, Grieger K, Kusk KO. Ecotoxicity of engineered nanoparticles to aquatic invertebrates: a brief review and recommendations for future toxicity testing. *Ecotoxicology.* 2008;17(5):387-95.
17. la Farre M, Perez S, Kantiani L, Barcelo D. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. *Trac-Trends Anal Chem.* 2008;27(11):991-1007.
18. Zhu XS, Zhu L, Chen YS, Tian SY. Acute toxicities of six manufactured nanomaterial suspensions to *Daphnia magna*. *J Nanopart Res.* 2009;11(1):67-75.
19. Marsalek B, Jancula D, Marsalkova E, Mashlan M, Safarova K, Tucek J, Zboril R. Multimodal Action and Selective Toxicity of Zerovalent Iron Nanoparticles against Cyanobacteria. *Environ Sci Technol.* 2012;46(4):2316-23.



20. Keller AA, Garner K, Miller RJ, Lenihan HS. Toxicity of nano-zero valent iron to freshwater and marine organisms. *PLoS One*. 2012;7(8):e43983.
21. Spurgeon DJ, Weeks JM, Van Gestel CAM. A summary of eleven years progress in earthworm ecotoxicology. *Pedobiologia*. 2003;47(5-6):588-606.
22. Ma WCW. Critical body residues (CBRs) for ecotoxicological soil quality assessment: copper in earthworms. *Soil Biol Biochem*. 2005;37(3):561-8.
23. Coleman JG, Johnson DR, Stanley JK, Bednar AJ, Weiss CA Jr, Boyd RE, Steevens JA. Assessing the fate and effects of nano aluminum oxide in the terrestrial earthworm, *eisenia fetida*. *Environ Toxicol Chem*. 2010;29(7):1575-80.
24. Lapiède E, Moudilou E, Exbrayat JM, Oughton DH, Joner EJ. Silver nanoparticle exposure causes apoptotic response in the earthworm *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta). *Nanomedicine*. 2010;5(6):975-84.
25. Lapiède E, Nahmani JY, Moudilou E, Chaurand P, Labille J, Rose J, Exbrayat JM, Oughton DH, Joner EJ. Ecotoxicological effects of an aged TiO<sub>2</sub> nanocomposite measured as apoptosis in the anecic earthworm *Lumbricus terrestris* after exposure through water, food and soil. *Environ Int*. 2011;37(6):1105-10.
26. El-Temsah YS, Joner EJ. Ecotoxicological effects on earthworms of fresh and aged nano-sized zero-valent iron (nZVI) in soil. *Chemosphere*. 2012;89(1):76-82.
27. Tiquia SM, Tam NFY. Elimination of phytotoxicity during co-composting of spent pig-manure sawdust litter and pig sludge. *Bioresour Technol*. 1998;65(1-2):43-9.
28. Banks MK, Schultz KE. Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum-contaminated soils. *Water Air Soil Pollut*. 2005;167(1-4):211-9.
29. Martí E, Sierra J, Cáliz J, Montserrat G, Vila X, Garau MA, Cruañas R. Ecotoxicity of Cr, Cd, and Pb on two mediterranean soils. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2013;64(3):377-87.
30. Masakorala K, Yao J, Guo H, Chandankere R, Wang J, Cai M, Liu H, Choi MMF. Phytotoxicity of long-term total petroleum hydrocarbon-contaminated soil-A comparative and Ccombined approach. *Water Air Soil Pollut*. 2013;224(5):1553.
31. Hillis DG, Fletcher J, Solomon KR, Sibley PK. Effects of Ten Antibiotics on Seed Germination and Root Elongation in Three Plant Species. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2011;60(2):220-32.
32. Barrena R, Casals E, Colon J, Font X, Sanchez A, Puntes V. Evaluation of the ecotoxicity of model nanoparticles. *Chemosphere*. 2009;75(7):850-7.
33. Ravindran A, Prathna TC, Verma VK, Chandrasekaran N, Mukherjee A. Bovine serum albumin mediated decrease in silver nanoparticle phytotoxicity: root elongation and seed germination assay. *Toxicol Environ Chem*. 2012;94(1):91-8.
34. Lin DH, Xing BS. Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth. *Environ Pollut*. 2007;150(2):243-50.
35. El-Temsah YS, Joner EJ. Impact of Fe and Ag nanoparticles on seed germination and differences in bioavailability during exposure in aqueous suspension and soil. *Environ Toxicol*. 2012;27(1):42-9.
36. Jiamjitrpanich W, Parkpian P, Polprasert C, Laurent F, Kosanlavit R. The tolerance efficiency of *Panicum maximum* and *Helianthus annuus* in TNT-contaminated soil and nZVI-contaminated soil. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 2012;47(11):1506-13.