Archive of SID

بررسی قابلیت انباشت نانوذرات اکسید روی در آرتمیا و انتقال تغذیه‌ای آن به ماهی دانیو گورخری (*Danio rerio*)

سیدعلی جوهری[۱]*، طیبه نعمتی[۱]، لیلا دکانی[۱]

*johari@uok.ac.ir

۱-گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: تیر۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۴

چکیده

در سال‌های اخیر رهایش نانو مواد به محیط زیست باعث ایجاد نگرانی‌هایی شده است. از طرفی این مواد می‌توانند دارای کاربردهای وسیع در بسیاری از زمینه‌ها و از جمله در آبزی‌پروری باشند. این مطالعه از یک طرف با هدف بررسی امکان غنی‌سازی آرتمیا با نانوذرات اکسید روی به منظور کاربرد احتمالی در آبزی پروری و از سوی دیگر با هدف بررسی انتقال این ماده از طریق زنجیره غذایی و تجمع زیستی آن در بدن ماهی دانیو گورخری به عنوان یک مدل آبزی انجام گردید. به منظور بررسی میزان انباشت و دفع نانوذرات اکسید روی در آرتمیا، ابتدا ناپلی‌ها به مدت ۲۴ ساعت در معرض سوسپانسیون نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند و سپس به مدت ۲۴ ساعت دیگر در آب فاقد نانوذرات قرار داده شدند. در مرحله بعد ماهیان دانیو گورخری ابتدا به مدت ۲۱ روز با ناپلی‌های غنی شده با نانوذرات و سپس به مدت ۷ روز با ناپلی‌های فاقد نانوذرات تغذیه شدند تا میزان انتقال تغذیه‌ای و رهایش روی از بدن ماهی‌ها مشخص گردد. انباشت روی در ناپلی‌ها و ماهی‌ها در دوره‌های انباشت و دفع با استفاده از دستگاه جذب اتمی سنجیده شد. نتایج نشان داد که ناپلی آرتمیا قابلیت بالایی در انباشت نانوذرات روی داشته و روی انباشته شده نیز با قابلیت بالایی به ماهی منتقل می‌شود. بر اساس نتایج، از طرفی می‌توان از فرایند غنی‌سازی آرتمیا با نانوذرات روی برای تأمین نیاز آبزیان به عنصر روی استفاده کرد و از طرف دیگر باید به خطر رهایش نانومواد به بوم‌سازگان‌های آبی و انتقال آن‌ها در طول زنجیرههای غذایی توجه نمود.

لغات کلیدی : آرتمیا سالینا، نانوذرات اکسید روی، انتقال تغذیه‌ای، ماهی دانیو گورخری.

*نویسنده مسئول

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

نانومواد که دارای حداقل یک بُعد با اندازه کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر هستند، دارای ویژگی‌های جدید و منحصر به فردی می‌باشند که باعث کاربرد آن‌ها در بسیاری از رشته‌های علمی و صنعتی گردیده و روز به روز بر تعداد محصولاتی که در آن‌ها از فن‌آوری نانو استفاده می‌شود افزوده می‌شود. در حال حاضر نانوذرات روی بعد از نانوذرات نقره، دی‌اکسید تیتانیوم، کربن و دی‌اکسید سیلیسیوم، به عنوان پُر مصرف‌ترین نانومواد ساخته‌ی دست انسان با کاربرد در ۳۶ محصول از میان ۱۶۲۸ محصول نانوئی ثبت شده تا سال ۲۰۱۳ مطرح می‌باشند (Woodrow Wilson Database، 2013). از نظر میزان تولید نیز نانوذرات اکسید روی با میانگین ۵۵۰ تن در سال بعد از نانوذرات دی‌اکسید سیلیسیوم و دی‌اکسید تیتانیوم جزو پُر تولیدترین نانومواد مهندسی شده می‌باشند (Piccinno *et al*., 2012). نانوذرات اکسید روی به دلیل ویژگی‌های ضد میکروبی و فوتوکاتالیستی در طیف وسیعی از محصولات از جمله لوازم آرایشی و بهداشتی، ضد آفتاب‌ها، رنگ‌ها، فیلترهای UV و حسگرهای زیستی استفاده می‌شوند. همزمان با افزایش تولید و استفاده از نانوذرات اکسید روی در محصولات تجاری، امکان رهایش آن‌ها به محیط‌زیست و از جمله به بوم‌سازگان‌های آبی افزایش می‌یابد، به‌طوری‌که Keller و همکاران (۲۰۱۳)، میزان ورود این نانوذرات را به محیط آبی ۳۷۰۰ تن در سال برآورد کرده‌اند.

اگرچه روی از نظر تغذیه‌ای جزو عناصر مغذی و ضروری برای زندگی جانوران و از جمله آبزیان محسوب می‌شود (Houng-Yung *et al*., 2014)، اما غلظت‌های بالای آن در محیط‌زیست یا خوراک موجودات آبزی باعث ایجاد مسمومیت می‌شود (Zheng *et al*., 2015). اگرچه مطالعات زیادی در مورد نیازهای غذایی آبزیان به عنصر روی و همچنین اثرات سمّی این ماده در موجودات آبزی انجام شده است، اما این اطلاعات در مورد نانوذرات روی بسیار اندک می‌باشند. به عنوان نمونه Wong و همکاران در سال ۲۰۱۰ سمّیت نانوذرات اکسید روی را در پنج گونه دریایی مورد بررسی قرار دادند و از جمله نشان دادند که حضور این ماده در آب باعث تغییر در بیان ژن‌های مختلف در ماهی مداکای دریایی (*Oryzias melastigma*) می‌شود. در مطالعه‌ای دیگر Bai و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که حضور نانوذرات اکسید روی در آب در کوتاه مدت باعث ایجاد مرگ و میر جنین‌ها، تأخیر در تخم‌گشائی، کاهش طول بدن و بدشکلی دم لاروهای ماهی دانیو گورخری می‌شود. همچنین Subashkumar و Selvanayagam در سال ۲۰۱۴ به بررسی اثر نانوذرات اکسید روی در کپور معمولی پرداختند و نشان دادند که حضور این ماده در آب باعث آسیب به بافت آبشش این ماهی می‌شود. اگرچه مطالعه اثر حضور نانوذرات اکسید روی در آب بر آبزیان بسیار مهم می‌باشد، اما بررسی اثرات تغذیه‌ای این ماده در موجودات آبزی نیز دارای اهمّیت است. در این رابطه تنها در یک مطالعه Skjolding و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی قابلیت انتقال تغذیه‌ای نانوذرات اکسید روی از کک آبی (*Daphnia magna*) به ماهی دانیو گورخری پرداختند و نشان دادند که این نانوماده قابلیت انباشت زیستی در بدن دافنی و همچنین انتقال از دافنی به ماهی را دارا می‌باشد.

آرتمیا یکی از موجوداتی است که علاوه بر اهمیت در تغذیه آبزیان به عنوان غذای زنده و قابلیت غنی‌سازی با مواد غذایی مختلف، در آزمایشات سم‌شناسی آبزیان نیز قابل استفاده است (Nunes *et al*., 2006). Wang و Wang در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که با وجود قابلیت انباشت زیستی نانوذرات نقره در آرتمیا، قابلیت انتقال تغذیه‌ای آن به ماهی مداکا پایین می‌باشد. بر اساس جستجوهای انجام شده به نظر می‌رسد که تا به امروز مطالعه‌ای در مورد قابلیت انتقال تغذیه‌ای نانوذرات اکسید روی از آرتمیا به ماهی گورخری انجام نشده است، بنابر این مطالعه حاضر برای اولین بار با دو هدف به بررسی قابلیت انباشت زیستی نانوذرات اکسید روی در آرتمیا (*Artemia salina*) و انتقال تغذیه‌ای آن به ماهی دانیو گورخری (*Danio rerio*) می‌پردازد: هدف اول بررسی امکان غنی‌سازی آرتمیا با نانوذرات روی است که چنانچه این قابلیت وجود داشته باشد می‌توان از آن به عنوان یک روش برای تأمین نیاز آبزیان به عنصر روی بخصوص در مراحل لاروی استفاده نمود؛ هدف دوم نیز بررسی قابلیت انتقال تغذیه‌ای عنصر روی از آرتمیا و تجمع زیستی آن در

www.SID.ir

Archive of SID

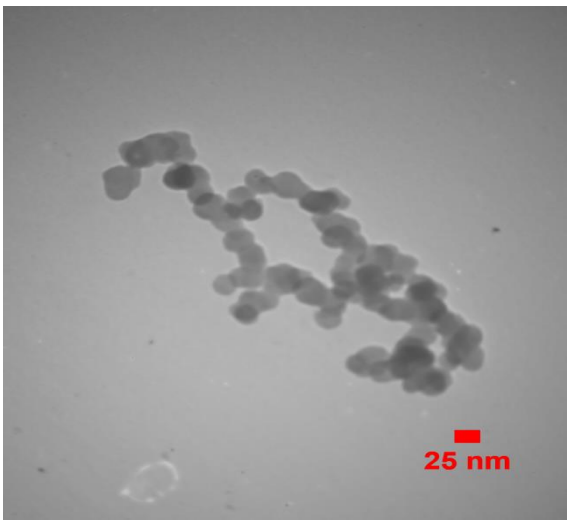
ماهی گورخری به عنوان یک آبزی مدل است که چنانچه این قابلیت وجود داشته باشد، در مطالعات بعدی باید دید که آیا روی تجمع یافته در بدن ماهی ایجاد مسمومیت می‌کند یا خیر.

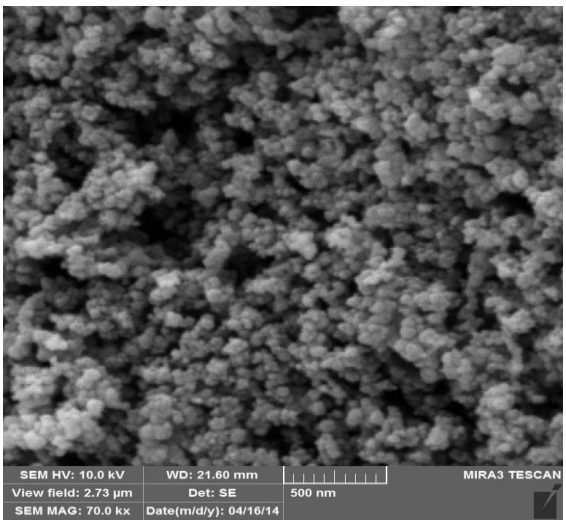
مواد و روش‌ها

ویژگی‌ها و روش آماده سازی نانو مواد مورد استفاده

نانوذرات اکسید روی مورد استفاده در این پژوهش ساخت شرکت US Research Nanomaterials بود که از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان خریداری گردید. بر اساس اطلاعات ارائه شده از طرف شرکت سازنده، این محصول پودری محتوی ذرات ZnO با میانگین اندازه ۲۵ تا ۳۰ نانومتر است. در شکل ۱ تصاویر میکروسکوپ الکترونی این نانوماده به نمایش در آمده است.

به منظور تبدیل نانوذرات اکسید روی به سوسپانسیون یکنواخت با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، ابتدا یک گرم از نانوذرات پودری وزن شد و با افزودن تدریجی آب دوبار تقطیر به آن، به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. به منظور توزیع یکنواخت ذرات، سوسپانسیون حاصله به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه حمام سونیکاتور قرار داده شد و سپس به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. این سوسپانسیون تا زمان استفاده در شیشه تاریک و در دمای اتاق نگهداری می‌گردید.





شکل ۱: تصاویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM، سمت راست) و نگاره (SEM، سمت چپ) از نانوذرات اکسید روی مورد استفاده در پژوهش.

کشت آرتمیا

در پژوهش حاضر از گونه آرتمیا سالینا (*A. salina*) استفاده شد که سیست آن توسط شرکت Tierarzt تایلند پیشکش شده بود. برای تخم‌گشائی ۱ گرم سیست آرتمیا، از انکوباتور یک لیتری محتوی ۸۰۰ میلی‌لیتر آب با شوری ۳۰ گرم در لیتر که دمای آن به‌وسیله حمام آبی در ۲۹ درجه سانتی‌گراد ثابت گردیده بود استفاده شد و روشنایی مورد نیاز آن نیز به‌وسیله یک عدد لامپ فلورسنت تأمین می‌گردید؛ به منظور غوطه‌وری یکنواخت سیست‌ها در آب نیز یک لوله متصل به پمپ هوا در کف انکوباتور قرار داده شده بود. در این شرایط ناپلی‌های آرتمیا پس از ۲۴ ساعت از تخم خارج شدند که در مرحله اینستار ۱ می‌باشند و هنوز قادر به فیلتراسیون آب و تغذیه از محیط خارجی نیستند. برای شروع مرحله غنی‌سازی باید ناپلی‌ها وارد مرحله اینستار ۲ شده باشند که بدین‌منظور ناپلی‌ها به مدت ۲۴ ساعت دیگر نیز در همان شرایط در انکوباتور نگهداری گردیدند.

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی قابلیت انباشت و رهایش نانوذرات اکسید روی در آرتمیا

به منظور بررسی انباشت و دفع نانوذرات اکسید روی در آرتمیا از بشرهای شیشه‌ای یک لیتری محتوی ۵۰۰ میلی‌لیتر آب با شوری ۳۰ گرم در لیتر استفاده شد. ۱۰۰۰ عدد ناپلی مرحله اینستار ۲ به مدت ۲۴ ساعت در معرض سه غلظت ۱۰۰، ۱۰ و ۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی و یا گروه شاهد (فاقد نانوذرات) قرار گرفتند و هر تیمار در ۳ تکرار انجام شد (غلظت‌های انتخابی به‌عنوان مقادیر بالا، متوسط و پایین و بر اساس یک سری آزمایشات اولیه انتخاب گردیدند). نیمی از آرتمیاهای هر گروه پس از ۲۴ ساعت به منظور سنجش میزان روی تجمع یافته در بدن جمع‌آوری گردیدند. نیمه دوم آرتمیاها به مدت ۲۴ ساعت دیگر در آب تازه (فاقد نانوذرات) و با شوری ۳۰ گرم در لیتر نگهداری شدند و پس از این مدت به منظور سنجش میزان روی باقیمانده در بدن آن‌ها جمع‌آوری گردیدند. نمونه‌های جمع آوری شده از هر دو مرحله‌ی انباشت و دفع ابتدا داخل الک شماره ۴۰ ریخته شده و چندین بار با آب مقطر شسته شدند تا ذراتی که احتمالا به صورت ضعیف به ضمائم بدن آن‌ها چسبیده شده بودند، جدا شوند. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در خشک‌کن الکتریکی در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. پس از توزین نمونه‌های خشک شده و انتقال آن‌ها به لوله‌های فالکون، به هر گروه ۱ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۶۵٪ افزوده شد و نمونه‌ها جهت هضم اسیدی به مدت دو ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شدند. پس از سرد شدن نمونه‌ها، حجم هر یک توسط آب دوبار تقطیر به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و در نهایت میزان روی در هر نمونه به‌وسیله دستگاه جذب اتمی (مدل فونیکس ۹۶۱، ساخت شرکت Biotech) خوانده شد. مقدار روی تجمع یافته، بر اساس وزن خشک هر بافت و بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم محاسبه گردید.

بررسی قابلیت انتقال تغذیه‌ای نانوذرات اکسید روی انباشته شده در بدن آرتمیا به بدن ماهی

به منظور بررسی انتقال تغذیه‌ای نانوذرات اکسید روی انباشته شده در بدن آرتمیا سالینا به بدن ماهی دانیو گورخری از آکواریوم‌های شیشه‌ای ۵۰ لیتری محتوی ۳۰ لیتر آب هوادهی شده استفاده گردید. در هر آکواریوم (هر تیمار) ۱۰ عدد ماهی سالم با میانگین وزن ۰/۲ ± ۱/۳ گرم قرار داده شد. ماهیان مورد استفاده از سه هفته قبل از شروع آزمایشات انتقال تغذیه‌ای با شرایط آزمایشگاه سازگار شده بودند و به تدریج از تغذیه از خوراک کنستانتره مخصوص ماهیان آکواریومی به تغذیه از ناپلی آرتمیا عادت داده شده بودند. دمای آب آکواریوم‌ها در طول انجام آزمایشات ۲۳ تا ۲۵ درجه سانتیگراد بود و هر آکواریوم به‌وسیله یک سنگ هوا به خوبی هوادهی می‌گردید. ماهی‌ها به مدت ۲۱ روز و روزانه یک بار با آرتمیا سالینایی که از روز قبل در معرض سه غلظت ۱۰۰، ۱۰ و ۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی قرار گرفته بودند و یا آرتمیاهای گروه شاهد (بدون در معرض‌گذاری با نانوذرات) تغذیه گردیدند. در طول ۲۱ روز، هیچ نوع غذای دیگری در اختیار ماهی‌ها قرار نگرفت و یک ساعت پس از هر بار غذادهی مواد دفعی تجمع یافته در کف آکواریوم (شامل مدفوع ماهیان و آرتمیاهای مُرده) از طریق سیفون کردن خارج می‌گردید و آب تازه به آکواریوم‌ها اضافه می‌شد؛ دوره نوری مورد استفاده در طول انجام آزمایشات شامل ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. در روز بیست و یکم، نیمی از ماهیان هر تیمار (۵ عدد) به منظور سنجش تجمع روی نمونه‌برداری شدند و نیمه دیگر به منظور بررسی دفع روی از بدن به مدت ۷ روز دیگر با ناپلی آرتمیای غیرآلوده تغذیه شدند و نمونه‌برداری آن‌ها در روز بیست و هشتم انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده از مراحل انباشت و دفع پس از شستشوی سطحی به مدت ۲۴ ساعت در خشک‌کن الکتریکی در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. پس از توزین نمونه‌های خشک شده و انتقال آن‌ها به لوله‌های فالکون، به هر گروه ۳ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۶۵٪ افزوده شد و نمونه‌ها جهت هضم اسیدی به مدت دو ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شدند. پس از سرد شدن نمونه‌ها، حجم هر یک با استفاده از آب دوبار تقطیر به ۱۴ میلی‌لیتر رسانده شد و در نهایت میزان روی

www.SID.ir

Archive of SID

در هر نمونه به‌وسیله دستگاه جذب اتمی (مدل فونیکس ۹۶۱، ساخت شرکت Biotech) خوانده شد. مقدار روی تجمع یافته، بر اساس وزن خشک هر بافت و بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم محاسبه گردید.

مقایسه آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Excel (نسخه ۲۰۰۷) و SPSS (نسخه ۱۹) انجام شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که داده‌ها با اطمینان ۹۵٪ نرمال بودند ($p>0.05$). به منظور تعیین معنی‌دار بودن اختلاف بین شاخص‌های مورد بررسی در تیمارها، تجزیه واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) مورد استفاده قرار گرفت و در صورت مشاهده اختلاف بین داده‌ها از آزمون چند دامنه ای دانکن جهت تعیین معنی‌دار بودن یا نبودن اختلاف موجود در سطح ۹۵٪ استفاده گردید.

نتایج

نتایج بررسی قابلیت انباشت و رهایش نانوذرات اکسید روی در آرتمیا در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که از داده‌های این جدول مشخص است نانوذرات اکسید روی دارای قابلیت تجمع در بدن ناپلی آرتمیا سالینا می‌باشند و با افزایش غلظت نانوذرات در آب، غلظت روی در بدن ناپلی‌ها بطور معناداری افزایش می‌یابد ($p<۰/۰۵$).

از طرفی اگرچه در تمام غلظت‌های مورد آزمایش، پس از یک دوره دفع ۲۴ ساعته غلظت روی در ناپلی‌ها به‌طور معناداری کاهش یافت، اما با توجه به داده‌ها به نظر می‌رسد که به ویژه در غلظت‌های بالاتر (۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) همچنان مقدار قابل توجهی روی در بدن ناپلی‌ها باقی مانده است.

در طول انجام آزمایشات تغذیه ماهی با آرتمیای غنی‌سازی شده با نانوذرات اکسید روی، تلفات ماهیان در هیچ یک از تیمارها مشاهده نگردید. نتایج بررسی قابلیت انتقال تغذیه‌ای نانوذرات اکسید روی انباشته شده در بدن آرتمیا سالینا به بدن ماهی دانیو گورخری در جدول ۲ نشان داده شده است. بر اساس این نتایج تغذیه با آرتمیاهای درمعرض غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی، باعث افزایش معنی‌دار تجمع روی در بدن ماهیان نسبت به ماهیان گروه شاهد نمی‌شود. از طرفی تغذیه ماهیان با آرتمیاهای درمعرض غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی، باعث افزایش معنی‌دار تجمع روی نسبت به ماهیان گروه شاهد و همچنین ماهیان تغذیه شده با آرتمیاهای درمعرض غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی می‌شود. همچنین نتایج نشان داد که دوره ۷ روزه دفع روی از بدن ماهیان باعث کاهش میزان روی انباشته شده در بدن ماهیان به نصف می‌شود.

جدول ۱: میزان انباشت و رهایش عنصر روی در ناپلی آرتمیا سالینا متعاقب رویارویی با نانوذرات اکسید روی.

غلظت نانوذرات اکسید روی در آب (میلی‌گرم در لیتر)	۰	۱	۱۰	۱۰۰
میزان عنصر روی انباشته شده در بدن آرتمیا بعد از ۲۴ ساعت دوره انباشت (میلی‌گرم در کیلوگرم)	۳۰۶/۲± ۱۸/۵ ^{A,a}	۶۲۱/۹ ± ۲۱/۸ ^{B,a}	۸۰۶/۸± ۳۶/۳ ^{C,a}	۱۱۴۸۱/۳ ± ۳۲۳/۶ ^{D,a}
میزان عنصر روی باقیمانده در بدن آرتمیا بعد از ۲۴ ساعت دوره رهایش (میلی‌گرم در کیلوگرم)	۲۸۵/۷± ۳۲/۲ ^{A,a}	۴۹۱/۶ ± ۱۷/۸ ^{B,b}	۶۳۱/۴ ± ۲۷/۱ ^{C,b}	۱۰۱۶۲/۸ ± ۳۵۶/۷ ^{D,b}

در هر سطر چنانچه از حروف بزرگ (A, B, C, D) متفاوت در بالای اعداد استفاده شده باشد، نشان دهنده وجود اختلاف معنادار بین تیمارهایی است که حروف آن‌ها با یکدیگر متفاوت است. همچنین حروف کوچک متفاوت (a, b) در بالای اعداد هر ستون نیز نشان دهنده وجود اختلاف معنادار بین میزان عنصر روی انباشته شده و باقیمانده در هریک از تیمارها است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲: میزان انباشت و رهایش عنصر روی در ماهیان گورخری متعاقب تغذیه با آرتمیای آلوده به نانوذرات اکسید روی.

غلظت نانوذرات اکسید روی در آب در معرض آرتمیاها (میلی‌گرم در لیتر)	۰	۱	۱۰	۱۰۰
میزان عنصر روی انباشته شده در بدن ماهی گورخری بعد از ۲۱ روز تغذیه با آرتمیای آلوده (میلی‌گرم در کیلوگرم)	۴۵۶/۶ ± ۵۱/۹ ^{A,a}	۴۷۲/۷ ± ۴۰/۱ ^{A,a}	۱۰۴۰/۱ ± ۹۴/۷ ^{B,a}	۲۲۳۰/۵ ± ۱۱۱/۴ ^{C,a}
میزان عنصر روی باقیمانده در بدن ماهی گورخری بعد از ۷ روز تغذیه با آرتمیای سالم (میلی‌گرم در کیلوگرم)	۳۸۴/۵ ± ۷۳/۷ ^{A,a}	۴۰۹/۲ ± ۷۶/۰ ^{A,a}	۵۹۷/۸ ± ۲۶/۲ ^{B,b}	۱۰۳۴/۶ ± ۸۷/۷ ^{C,b}

در هر سطر چنانچه از حروف بزرگ (A, B, C, D) متفاوت در بالای اعداد استفاده شده باشد، نشان دهنده وجود اختلاف معنادار بین تیمارهایی است که حروف آن‌ها با یکدیگر متفاوت است. همچنین حروف کوچک متفاوت (a, b) در بالای اعداد هر ستون نیز نشان دهنده وجود اختلاف معنادار بین میزان عنصر روی انباشته شده و باقیمانده در هریک از تیمارها است.

بحث

آرتمیا یک موجود فیلتر کننده غیر انتخابی است که مواد معلق موجود در محیط را تنها با توجه به اندازه و از طریق فیلتر کردن آب وارد بدن می‌کند (McEdward، 1995). در پژوهش حاضر نشان داده شد که آرتمیا سالینا قابلیت بالایی در انباشت نانوذرات روی دارد و این قابلیت با افزایش غلظت نانوذرات در محیط افزایش می‌یابد. توانا و همکاران نیز در سال ۱۳۹۳ نشان دادند که *Artemia franciscana* دارای توانایی جذب و انباشت نانوذرات نقره و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در بدن می‌باشد. در مطالعه Skjolding و همکاران (۲۰۱۴) نشان داده شد که زمانی که دافنی‌ها به مدت ۲۴ ساعت در معرض غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی فاقد گروه‌های عاملی و یا دارای گروه‌های عاملی اُکتیل (-R-C_8H_{17}) و هیدروکسیل (-OH) قرار می‌گیرند، میزان روی تجمع یافته در بدن آن‌ها به ترتیب به میزان ۳۵۸۰±۷۶۹۰، ۲۸۷±۹۱ و ۲۴۶۰±۳۷۲۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن خشک می‌باشد. در مطالعه حاضر زمانی که آرتمیاها به مدت ۲۴ ساعت در معرض غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی فاقد گروه‌های عاملی قرار گرفتند، میزان روی تجمع یافته در بدن آن‌ها ۲۱/۸±۶۲۱/۹ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن خشک بود. با مقایسه این نتایج به نظر می‌رسد که در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی، قابلیت تجمع روی در بدن دافنی بیشتر از آرتمیا است؛ البته از آنجا که در مطالعه Skjolding و همکاران (۲۰۱۴) غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی بر روی دافنی مورد آزمون قرار نگرفته است، نمی‌توان در این غلظت‌ها نیز چنین مقایسه و نتیجه‌گیری انجام داد.

اگرچه در تمام غلظت‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر، غلظت روی در آرتمیاها پس از یک دوره دفع ۲۴ ساعته به‌طور معناداری کاهش یافته بود، اما بر اساس داده‌های دوره‌ی دفع، در غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر همچنان مقدار قابل توجهی روی در بدن آرتمیاها باقی مانده بود. نتایج قسمت دوم آزمایشات نیز مؤید این مطلب است که روی انباشته شده در بدن آرتمیا، قابلیت انتقال به بدن ماهی را داشته است. بر این اساس به نظر می‌رسد که آرتمیا از قابلیت بالایی برای غنی‌سازی با نانوذرات روی برخوردار است و می‌توان از این ویژگی برای تأمین نیاز آبزیان به روی، به ویژه در مراحل ابتدایی زندگی استفاده کرد. Nguyen و همکاران در سال ۲۰۰۸ به بررسی اثر آرتمیای غنی‌سازی شده با یون‌های روی و منگنز بر شاخص‌های رشد و نیز بدشکلی استخوان‌های مهره در لارو ماهی سیم قرمز دریایی (*Pagrus major*) پرداختند. از آنجا که فلزات در حالت یونی در آب محلول می‌باشند و در نتیجه به میزان بسیار کمی قابلیت غنی‌سازی در بدن آرتمیا دارند، این پژوهشگران برای غنی‌سازی از ترکیب اُمگا-۳ با منگنز یا روی که از قبل به مدت ۲ ساعت با یکدیگر مخلوط شده بودند استفاده کردند و ناپلی‌های آرتمیا را در معرض این مخلوط قرار دادند. نتایج پژوهش مذکور نشان داد که پس از ۳۲ ساعت غنی‌سازی ناپلی آرتمیا با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر یون روی،

www.SID.ir

Archive of SID

میزان روی در بدن ناپلی‌ها نسبت به گروه شاهد به میزان ۳/۵ برابر افزایش می‌یابد. نکته جالب توجه این است که در پژوهش حاضر، پس از ۲۴ ساعت غنی‌سازی ناپلی آرتمیا با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات روی، میزان روی در بدن ناپلی‌ها نسبت به گروه شاهد بیش از ۳۷ برابر افزایش یافته است. مقایسه‌ی این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از نانوذرات روی به جای یون روی برای غنی‌سازی آرتمیا و استفاده از آن در آبزی پروری از پتانسیل بسیار بالایی برخوردار است. همچنین در مطالعات آینده باید به بررسی قابلیت غنی‌سازی آرتمیا با سایر عناصر مغذی مورد نیاز آبزیان و مقایسه‌ی حالت نانویی و یونی این مواد پرداخته شود. همانطور که در قسمت مقدمه یادآوری گردید، همچنان که مقادیر متعادل روی یا هر نوع ماده مغذی دیگر در محیط و خوراک آبزیان ضروری می‌باشد، مقادیر بالای آن می‌تواند باعث ایجاد مسمومیت گردد. بنابر این در اینجا توجه به این نکته ضروری می‌باشد که میزان استفاده از آرتمیای غنی شده با نانوذرات روی یا هر نوع نانوذره‌ی دیگر در جیره‌ی غذایی آبزیان و همچنین سطح غنی‌سازی آرتمیا با نانوذرات روی یا هر نوع نانوذره دیگر برای تغذیه آبزیان نباید به میزانی باشد که در آن‌ها ایجاد مسمومیت نماید. میزان غنی شدن را، هم می‌توان از طریق تنظیم مدت زمان غنی‌سازی و هم تنظیم غلظت نانوماده در محیط غنی‌سازی به میزان مورد نیاز تنظیم نمود.

پژوهش حاضر علاوه بر اهمیت در بحث غنی‌سازی آرتمیا با نانوذرات اکسید روی و کاربرد آن در آبزی پروری، نشان داد که حضور این نانوذرات در محیط زیست آبزیان منجر به انباشته شدن آن در بدن موجوداتی همچون آرتمیا شده و از این طریق وارد زنجیره غذایی سایر موجودات آبزی می‌شود و در بدن آن‌ها تجمع می‌یابد که می‌تواند منجر به اثرات منفی بر آن‌ها شود. بنابر این هرگونه رهایش عمدی یا تصادفی نانومواد به بوم‌سازگان‌های آبی ممکن است باعث ایجاد اختلال در محیط زندگی آبزیان شود و باید از هم‌اکنون به فکر تصفیه فاضلاب‌های حاوی نانومواد قبل از ورود به محیط‌زیست باشیم.

تشکر و قدردانی

نویسندگان لازم می‌دانند از مرکز پژوهشی ساخت و کاربرد نانو ذرات دانشگاه کردستان در حمایت از انجام این پژوهش قدردانی نمایند.

منابع

توانا، م.، کلباسی، م.ر.، عابدیان کناری، ع.م. وجوهری، س.ع. ۱۳۹۳. ارزیابی میزان جذب و رهایش نانوذرات نقره و دی‌اکسید تیتانیوم در ناپلی آرتمیا فرانسیسکانا در شوری‌های مختلف. مجله اقیانوس‌شناسی، ۱۰۳-۹۱ :(۱۹)۵.

Bai, W., Zhang, Z., Tian, W., He, X., Ma, Y., Zhao, Y. and Chai, Z., 2010. Toxicity of zinc oxide nanoparticles to zebrafish embryo: a physicochemical study of toxicity mechanism. Journal of Nanoparticle Research, 12(5): 1645-1654.

Houng-Yung, C., Yu-Chun, C., Li-Chi, H. and Meng-Hsien, C., 2014. Dietary zinc requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. Aquaculture, 432: 360-364

Keller, A.A., McFerran, S., Lazareva, A. and Suh, S., 2013. Global life cycle releases of engineered nanomaterials. Journal of Nanoparticle Research, 15(1692): 1-17.

McEdward, L.R., 1995. Ecology of marine invertebrate larvae, 1st ed.; CRC Press: Florida.

Nguyen, V.T., Satoh, S., Haga, Y., Fushimi, H. and Kotani, T., 2008. Effect of zinc and manganese supplementation in *Artemia* on growth and vertebral deformity in red sea

www.SID.ir

Archive of SID

bream (*Pagrus major*) larvae. Aquaculture, 285: 184-192.

Nunes, B.S., Carvalho, F.., Guilhermino, L. M. and Van Stappen, G., 2006. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. Environmental Pollution, 144: 453-462.

Piccinno, F., Gottschalk, F., Seeger, S. and Nowack, B., 2012. Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials for Europe and the world. Journal of Nanoparticle Research, 14: 1109-1120.

Skjolding, L.M., Winther-Nielsen, M. and Baun, A., 2014. Trophic transfer of differently functionalized zinc oxide nanoparticles from crustaceans (*Daphnia magna*) to zebrafish (*Danio rerio*). Aquatic toxicology, 157: 101-108.

Subashkumar, S. and Selvanayagam, M., 2014. First report on: Acute toxicity and gill histopathology of fresh water fish *Cyprinus carpio* exposed to Zinc oxide (ZnO) nanoparticles. International Journal of Scientific and Research Publications, 4(3): 1-4.

Wang, J. and Wang, W.X., 2014. Low bioavailability of silver nanoparticles presents trophic toxicity to marine medaka (*Oryzias melastigma*). Environmental Science and Technology, 48(14): 8152-8161.

Wong, S.W., Leung, P.T., Djurisić, A.B. and Leung, K.M., 2010. Toxicities of nano zinc oxide to five marine organisms: influences of aggregate size and ion solubility. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 396: 609-618.

Woodrow Wilson Database, 2014. Nanotechnology consumer product inventory. http://www.nanotechproject.org/cpi/about/analysis/. Accessed on January 8, 2016.

Zheng, J.L., Luo, Z., Zhu, Q.L., Hu, W., Zhuo, M.Q., Pan, Y.X., Song, Y.F. and Chen, Q.L., 2015. Different effect of dietborne and waterborne Zn exposure on lipid deposition and metabolism in juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. Aquatic Toxicology, 159: 90-98.

www.SID.ir

Archive of SID

Study on accumulation potential of zinc oxide nanoparticles in Artemia and its trophic transfer to Zebrafish (*Danio rerio*)

Johari S.A.[1*]; Nemati T.[1]; Dekani L.[1]

[*]a.johari@uok.ac.ir

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

Abstract

Although nanomaterials have broad applications in many fields including aquaculture, their release into the environment has raised some concerns in recent years. This study was conducted to investigate the possibility of enriching Artemia with zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) for possible use in aquaculture on the one hand, and, on the other hand, to investigate the transfer of this material through the food chain and its accumulation in the body of zebrafish as an aquatic model. In order to evaluate the absorption and excretion of ZnO-NPs in Artemia, nauplii were exposed to concentrations of 1, 10 and 100 mg/L ZnO-NPs suspension for 24 hours and then placed in the nanoparticles-free water for another 24 hours. The zebrafish were then fed with ZnO-NPs enriched nauplii for 21 days, followed by feeding on nanoparticles-free nauplii for 7 days to determine trophic transfer as well as excretion of nanoparticles from the fish body. The accumulated zinc over the periods of absorption and excretion in nauplii and fish were measured using atomic absorption spectrophotometer. The results showed that Artemia nauplii had high potential for accumulation of ZnO-NPs, while accumulated zinc had high potential for transfer to fish. Based on the results, Artemia can be enriched with ZnO-NPs so that the needs of fish to zinc can be met. However, the risk of nanomaterials release into the aquatic ecosystems and their trophic transfer along the food chain should be considered.

Keywords: *Artemia salina*, *Danio rerio*, Trophic Transfer, Zinc Oxide Nanoparticles.

*Corresponding author

www.SID.ir