سمیت تغذیه‌ای کلوئید نانوذرات نقره در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

(*Oncorhynchus mykiss*)

سید علی جوهری[۱]*، سهیلا حسینی[۱]

* a.johari@uok.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان.

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۲ **تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۲**

چکیده

به‌منظور مطالعه سمیت تغذیه‌ای کلوئید نانوذرات نقره در قزل‌آلای رنگین‌کمان، ابتدا ماهیان به مدت ۵ هفته با جیره‌های غذایی محتوی ۰، ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات نقره و سپس به مدت یک هفته با جیره‌های فاقد نانوذرات تغذیه شدند. طی این مدت رشد ماهیان و نیز انباشتگی و زدایش نقره در بافت های کبد، کلیه، دستگاه گوارش و ماهیچه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که دوز بالای نانوذرات نقره در جیره غذایی ماهیان باعث کاهش اشتها و رشد ماهیان می‌شود. همچنین تغذیه ماهیان با غذای محتوی نانوذرات نقره (بویژه در دوز بالاتر) باعث افزایش انباشتگی نقره در بافت‌های ماهیان می‌شود (غلظت نقره در کبد>کلیه>دستگاه گوارش>ماهیچه). هر چند یک هفته‌ای در نظر گرفته شده برای زدایش نانوذرات از بافت های ماهیان کافی نبود، اما باعث تغییراتی در انباشتگی نقره در اندام‌های مختلف ماهیان گردید. اثرات مشاهده شده بر اثر تغذیه ماهیان با جیره محتوی نانوذرات نقره، نشان داد که بلع نانوذرات ممکن است باعث تأثیر بر سلامت ماهیان اثر منفی بگذارد. بنابر این جلوگیری از ورود این مواد جدید به چرخه غذایی آبزیان ضروری به نظر می‌رسد.

لغات کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، سمیت تغذیه‌ای، نانو سم‌شناسی آبزیان، نانوذرات نقره، انباشتگی، زدایش.

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-07]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.1.3.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110159]

مقدمه

فن آوری نانو در سال های آینده باعث تغییرات شگرفی در تمام جنبه‌های زندگی بشر خواهد شد و کاربردهایی را برای ما فراهم خواهد کرد که امروزه حتی قابل تصور هم نیستند. بر اساس تعریف مصوب کمیسیون اروپا (۱۸ اکتبر ۲۰۱۱) نانومواد عبارتند از مواد طبیعی، تولید شده به صورت اتفاقی و یا ساخته شده بدست بشر، که حاوی ذراتی به صورت آزاد، تجمع یافته و یا کلوخه شده بوده و از نظر توزیع اندازه، حداقل ۵۰ درصد ذرات آن حداقل در یک بُعد دارای اندازه‌ای بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر باشند. در موارد ویژه همچون مسائل مربوط به بهداشت و سلامت، ایمنی و محیط‌زیست، از نظر شرط توزیع اندازه، حتی موادی که ۱ تا ۵۰ درصد آن ها بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر باشند نیز در حیطه نانو مواد قرار می‌گیرند (http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech).

بررسی ۱۶۲۸ محصول مصرفی مبتنی بر فن آوری نانو در ۳۰ کشور جهان نشان داده است که نانوذرات نقره در ۳۸۳ عدد از این محصولات (معادل ۲۳/۵ درصد کل محصولات) استفاده شده اند (Woodrow Wilson Database, 2014). از جمله کاربردهای نانوذرات نقره در زندگی روزمره بشر می توان به کاربرد در محصولات پزشکی، صنایع غذایی، خمیر دندان، شامپو، رنگ، سیستم های تصفیه آب، فیلترهای هوا و ماشین ظرفشویی و لباسشویی اشاره کرد (Shahare *et al*., 2013). با توجه به استفاده بیشتر نانوذرات نقره نسبت به سایر نانومواد در محصولات مصرفی انسان، احتمال ورود این ماده به محیط‌زیست نیز بیشتر می باشد. از طرفی مقصد نهائی تمام آلاینده‌هایی که وارد محیط زیست می‌شوند، اکوسیستم‌های آبی است و به همین دلیل زیستمندان آبزی می توانند متأثر از انواع آلاینده ها شوند. نانو سم‌شناسی آبزیان شامل بررسی اثرات سمی نانو مواد بر زیستمندان آبزی، اعم از باکتری‌های آبزی، جلبک‌های تک‌سلولی و پر سلولی، پلانکتون‌های جانوری، نرمتنان، سخت‌پوستان، دوزیستان، ماهی ها و غیره می‌باشد (جوهری، ۱۳۹۰).

بطور کلی آبزیان از طریق آب و غذا ممکن است در معرض نانوذرات قرار گیرند. مطالعات زیادی در رابطه با در معرض قرارگیری آبزیان با نانو مواد انجام شده است و تا پایان دسامبر ۲۰۱۱ تعداد ۱۳۷ مقاله در رابطه با سم‌شناسی نانو مواد مختلف بر روی ۱۴ گونه‌ی مختلف ماهی منتشر گردیده است (Johari *et al*., 2013). اگرچه بیشتر مطالعات انجام شده مربوط به در معرض قرارگیری ماهیان با نانومواد از طریق آب بوده است، ولی با توجه به جستجوهای انجام شده در منابع موجود، تعداد ۵ مقاله نیز در رابطه با در معرض قرار گیری ماهیان با نانو مواد مختلف، از طریق غذا منتشر شده است (Ramsden *et al*., 2009; Wan & Li, 2010; Fraser *et al*., 2011; Geffroy *et al*.,2012; Merifield *et al., 2013*) که در این مطالعات اثرات سمیت تغذیه‌ای نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم (بر قزل‌آلای رنگین‌کمان)، نانوذرات کیتوزان (بر تیلاپیا)، نانو لوله‌های کربنی تک دیواره و فولرن (بر قزل‌آلای رنگین‌کمان)، نانوذرات طلا (بر ماهی گورخری) و نانوذرات مس و نقره (بر ماهی گورخری) مورد بررسی قرار گرفته اند.

از آنجا که تا به امروز مطالعه‌ای در زمینه بررسی اثرات سمیت تغذیه‌ای کلوئید نانوذرات نقره بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منتشر نگردیده است، در پژوهش حاضر پس از تغذیه ماهی قزل آلا با جیره محتوی نانوذرات نقره، اثر این نانوماده بر رشد ماهیان و تجمع فلز نقره در بافت‌های ماهیچه، دستگاه گوارش، کبد و کلیه مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش کار

در این پژوهش تعداد ۲۴ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن(±SD) ۲±۱۳ گرم از یک مرکز خصوصی در شهرستان سنندج تهیه گردید. ماهی‌ها به مدت دو هفته پیش از شروع آزمایشات جهت سازگاری با شرایط محیط آزمایشگاهی در مخزنی با حجم ۱۰۰۰ لیتر نگهداری شدند. آب مورد استفاده در این پروژه آب شهر سنندج بود و جهت کلرزدایی آن از ۱میلی‌گرم در لیتر تیوسولفات‌سدیم به همراه هوادهی شدید استفاده گردید. همچنین جهت بهبود کیفیت آب از زئولیت طبیعی استفاده گردید. میانگین دمای آب (±SD) در این دوره ۲±۱۴ درجه سانتیگراد بود و ماهی‌ها روزانه یکبار به میزان ۱ درصد وزن بدن با غذای تجاری قزل‌آلا (ساخت کارخانه چینه) تغذیه می شدند.

در این پژوهش از کلوئید نانوذرات نقره ساخت شرکت نانونصب‌پارس با نام تجاری نانوسید L2000 استفاده گردید. مشخصات این کلوئید در مطالعات Asghari و همکاران (۲۰۱۲) و Johari و همکاران (۲۰۱۳) بطور کامل مورد سنجش قرار گرفته و گزارش شده است. بر اساس نتایج مطالعات مذکور، بطور خلاصه کلوئید مورد استفاده حاوی نانوذرات نقره با غلظت ۴۰۰۰ میلی‌گرم

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-07]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.1.3.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110159]

در لیتر، میانگین (±SD) پتانسیل زتای ۷/۸۶±۵۳/۳۳ میلی ولت و pH ۲/۴۰، بود؛ همچنین میانگین قطر نانوذرات نقره در کلوئید مذکور ۱۶/۶ نانومتر می باشد.

نانوذرات نقره مورد مطالعه با دو دوز اسمی ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به عنوان غلظت های پایین و بالای نانوذرات به غذای ماهی قزل آلا اضافه گردید. بدین منظور به ازای هر تیمار، ابتدا ۴۰۰ گرم غذای کنسانتره (ساخت کارخانه چینه) وزن گردید. در هر تیمار، مقدار محاسبه شده کلوئید نانوذرات نقره برای دست یابی به دوزهای مورد نظر، ابتدا با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس به صورت جداگانه بر روی غذاها اسپری گردید. به‌منظور یکسان سازی شرایط، در مورد تیمار شاهد (فاقد نانوذرات نقره) نیز ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر (فاقد نانوذرات) بر روی ۴۰۰ گرم غذا اسپری شد. غذاهای آماده شده به روش فوق به مدت ۳ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. به منظور محافظت غذاها و جلوگیری از رها شدن نانوذرات و ورود آن‌ها به محیط آب، غذاهای آماده شده به روش فوق، توسط لایه‌ای از ژلاتین گاوی پوشانده شدند (طبق روش Ramsden *et al*., 2009). بدین منظور ابتدا محلول ۱۰ درصد ژلاتین گاوی در آب مقطر تهیه گردید و بر روی هر یک از انواع غذاها (۴۰۰ گرم) میزان ۵۰ میلی‌لیتر از محلول ژلاتین بصورت یکنواخت اسپری گردید. در پایان غذاها به مدت ۳ ساعت دیگر در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند.

بعد از اتمام دوره سازگاری، ماهیان به صورت کاملا تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی تقسیم شدند و هر گروه پس از توزین و علامت‌گذاری در یک مخزن ۸۰۰ لیتری محتوی آب هوادهی شده منتقل گردید. جهت شناسایی تک به تک، ماهیان از طریق قطع بخش اندکی از یکی از باله های سینه ای راست یا چپ، باله شکمی راست یا چپ، جلو یا عقب باله پشتی و بالا یا پائین باله دمی علامت‌گذاری گردیدند. ماهیان هر یک از تیمارها به مدت ۵ هفته با یکی از جیره‌های غذایی شاهد (فاقد نانوذرات)، ۲۵ و یا ۵۰ میلی‌گرم نانوذرات نقره در هر کیلوگرم غذا تغذیه شدند. غذادهی ماهیان روزانه یک‌بار در ساعت ۱۲ ظهر به میزان ۱ درصد وزن بدن انجام می شد و غذاهای باقی مانده در مخزن بعد از ۲۰ دقیقه از شروع غذادهی از مخزن خارج می گردید. میانگین دمای آب در این دوره نیز ۲±۱۴ درجه سانتیگراد بود و هر دو روز یک بار ۸۰ درصد آب مخازن تعویض می‌گردید.

بعد از پایان هفته پنجم، ماهیان هر تیمار به صورت تک به تک نمونه برداری و توزین گردیدند. تعداد ۴ عدد از ماهیان هر تیمار به منظور نمونه برداری بافت های کبد، کلیه، ماهیچه و دستگاه گوارش پس از بیهوش سازی توسط عصاره گل میخک، قطع نخاع گردیدند و از بافت های مذکور نمونه‌برداری شد. در مورد ماهیچه، از قسمت بالای خط جانبی، زیر باله پشتی نمونه بافتی به ابعاد ۱×۱×۱ سانتی‌متر برداشته شد؛ در مورد سایر بافت‌ها، اندام بطور کامل از بدن ماهی خارج گردید. به منظور پاکسازی دستگاه گوارش از مواد غذائی هضم نشده، مدفوع و بقایای احتمالی نانوذرات متصل به موکوس، پس از نمونه‌برداری، مجرای دستگاه گوارش با استفاده از آب مقطر چندین بار شستشو داده شد تا محتویات آن خارج گردد. نهایتا تمام بافت های مذکور پس از توزین ابتدا در دستگاه آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس مجددا توزین گردیدند. تعداد ۴ عدد ماهی باقیمانده در هر تیمار، به مدت یک هفته دیگر جهت بررسی امکان پاکسازی و زدایش نانوذرات نقره از بافت‌های بدن، نگهداری و با غذای تجاری (فاقد نانوذرات) تغذیه گردیدند. شرایط نگهداری و نحوه تغذیه در این مدت نیز مانند دوره ۵ هفته‌ای بود. پس از پایان این یک هفته نیز، ماهیان تمام تیمارها توزین و سپس از بافت‌های آن‌ها مانند آنچه در بالا توضیح داده شد نمونه برداری گردید.

در تمام آزمایشات، پس از نمونه برداری و توزین کبد، شاخص کبدی با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید:

۱۰۰×(وزن تر بدن / وزن تر کبد) = شاخص کبدی : رابطه ۱

به منظور سنجش میزان تجمع نقره در بافت‌های نمونه‌برداری شده از ماهیان، ابتدا به روش هضم اسیدی (Salari joo *et al*., 2013) نقره تجمع یافته در بافت‌ها به صورت محلول درآورده شد. بدین منظور ابتدا ۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ بر روی ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه خشک شده در ظروف فالکون ریخته شد؛ سپس به منظور تکمیل عمل هضم، نمونه‌ها به مدت ۳ ساعت در حمام بن ماری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از خنک شدن نمونه‌های هضم شده، حجم تمام نمونه‌ها توسط آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در نهایت میزان نقره در هر نمونه بوسیله دستگاه جذب اتمی مجهز به کوره گرافیتی (مدل فونیکس ۹۶۱، ساخت شرکت Biotech) و در طول موج ۳۲۸/۱ نانومتر (دارای ۵ مرحله دمایی ۱۹۰۰، ۱۸۰۰، ۶۰۰ ، ۱۲۰، ۹۰ درجه سانتیگراد)

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-07]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.1.3.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110159]

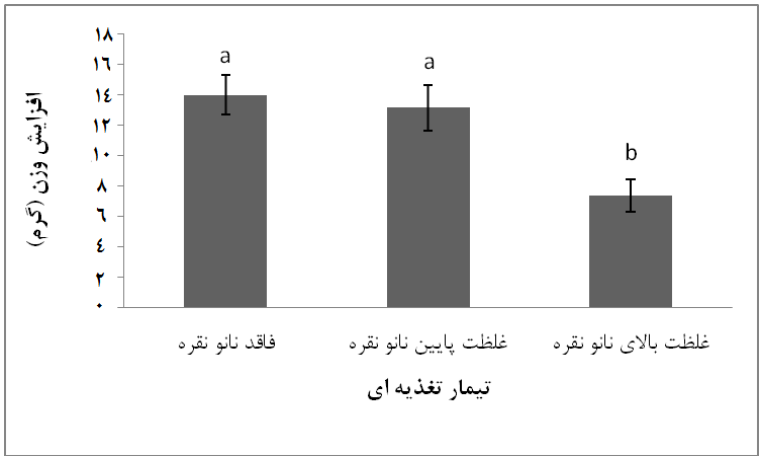
خوانده شد. مقدار نقره تجمع یافته، بر اساس وزن خشک هر بافت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای Excel و SPSS انجام شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنف سنجیده شد و نتایج نشان داد که داده‌ها با اطمینان ۹۵٪ نرمال بودند ($P>0.05$). به منظور تعیین معنی‌دار بودن اختلاف 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

بر اساس نتایج اندازه‌گیری غلظت نقره در تیمارهای غذایی محتوی دوزهای اسمی ۵۰، ۲۵ و ۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات نقره، گزارش گردیده است.

مشخص گردید که غلظت واقعی نقره در این تیمارها به ترتیب برابر ۵۷/۹۴، ۲۵/۷۷۸ و ۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بوده است و بنابر این مقادیر اسمی به مقادیر واقعی بسیار نزدیک بوده اند.

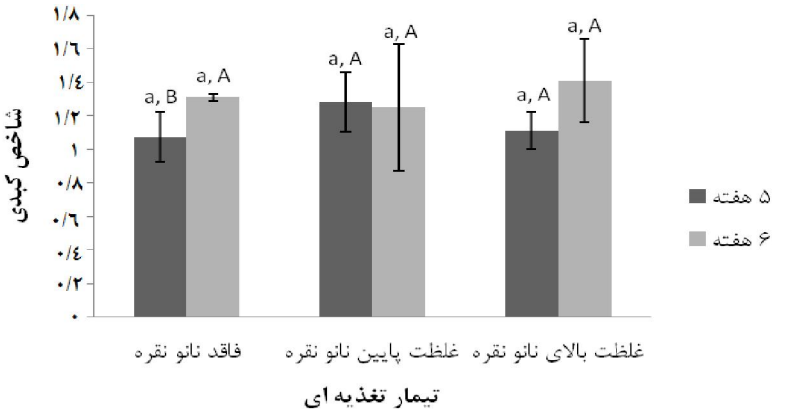
سنجش وزن ماهیان پس از ۵ هفته تغذیه با غذاهای حاوی نانوذرات نقره نشان داد که غلظت بالای نانوذرات (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در جیره غذایی ماهیان قزل‌آلا باعث کاهش وزن آن‌ها می‌شود (شکل ۱)؛ اما رشد ماهیان تغذیه شده با غلظت پائین نانوذرات (۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) تفاوت معنی‌داری با رشد ماهیان تغذیه شده با غذای فاقد نانوذرات نشان نداد. از مشاهدات این پژوهش، عدم تمایل ماهیانی که با غلظت بالای نانوذرات تغذیه شده بودند، به سمت غذا بود به طوری که حتی در دوره یک هفته ای که این ماهیان با جیره فاقد نانوذرات تغذیه شدند، تمایلی به تغذیه از خود نشان نمی‌دادند.



شکل ۱: میانگین و انحراف معیار تغییرات وزنی ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی محتوی نانوذرات نقره در مقایسه با گروه شاهد در پایان هفته پنجم. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می باشند ($P\leq0.05$).

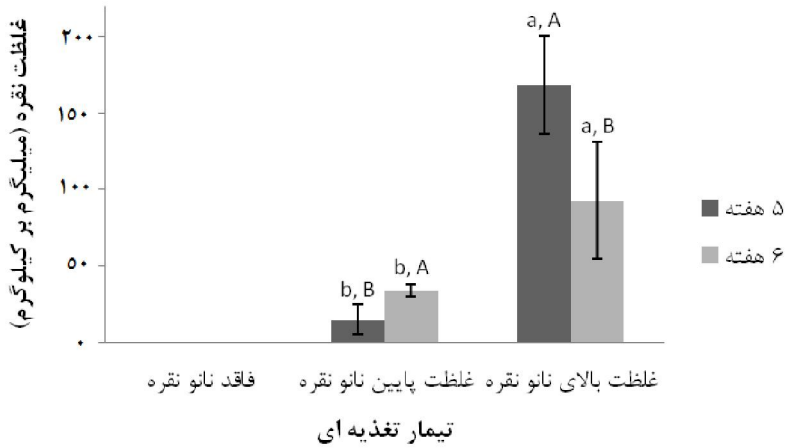
نتایج سنجش شاخص کبدی در تیمارهای مختلف نشان داد که در تیمار شاهد (فاقد نانوذرات نقره)، مقدار شاخص کبدی در پایان هفته ششم بالاتر از پایان هفته پنجم بود. اما همانطور که در شکل ۲ مشاهده می گردد، بین سایر تیمارها و همچنین بین روزهای متفاوت نمونه برداری در تیمارهای تغذیه شده با جیره محتوی نانوذرات نقره تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-07]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.1.3.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110159]



شکل ۲: میانگین و انحراف معیار شاخص کبدی ماهیان مورد مطالعه. ۵ هفته: ۳۵ روز تغذیه با جیره های غذایی محتوی نانوذرات نقره. ۶ هفته: ۷ روز تغذیه با جیره غذایی فاقد نانوذرات نقره به‌منظور بررسی زدایش نقره از بدن ماهیان. حروف بزرگ به‌منظور مقایسه اختلاف شاخص کبدی ماهیان هر تیمار بین هفته پنجم و ششم نمونه برداری و حروف کوچک به‌منظور مقایسه اختلاف شاخص کبدی بین تیمارهای مختلف می باشند.

نتایج سنجش غلظت نقره در کبد ماهیان نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات نقره در غذای مصرفی، میزان تجمع فلز نقره در بافت کبد ماهیان افزایش می یابد. در تیمار تغذیه شده با غذای محتوی ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات نقره، غلظت نقره در بافت کبد پس از یک هفته تغذیه با جیره فاقد نانوذرات، نه تنها کاهش نشان نداده بود، بلکه افزایش معنی‌داری نشان داد ($F=28.417, df=3, P\leq 0.05$)؛ اما در تیمار تغذیه شده با غذای محتوی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات نقره، غلظت نقره در بافت کبد پس از یک هفته تغذیه با جیره فاقد نانوذرات، کاهش معنی‌داری نشان داده بود ($F=73.346, df=3, P\leq 0.05$).



شکل ۳: میزان نقره اندازه گیری شده در کبد ماهیان مورد مطالعه (بر اساس وزن خشک کبد). ۵ هفته: ۳۵ روز تغذیه با جیره های غذایی محتوی نانوذرات نقره. ۶ هفته: ۷ روز تغذیه با جیره غذایی فاقد نانوذرات نقره به منظور بررسی زدایش نقره از کبد ماهیان. حروف بزرگ جهت مقایسه اختلاف غلظت نقره در کبد ماهیان هر تیمار بین هفته پنجم و ششم نمونه برداری و حروف کوچک جهت مقایسه اختلاف غلظت نقره در کبد بین ماهیان تیمارهای مختلف می باشند.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-07]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.1.3.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110159]

نتایج این پژوهش نشان داد که تجمع نقره در بافت کلیه، تنها در ماهیان تغذیه شده با غذای محتوی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات نقره اتفاق می‌افتد، مقدار میانگین (±SD) نقره تجمع یافته در بافت کلیه این ماهیان برابر ۱۴/۶۴۸±۱۹/۹۴۶ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. در ماهیان مذکور، پس از یک هفته تغذیه با غذای فاقد نانوذرات نقره، نتنها غلظت نقره در بافت کلیه کاهش پیدا نکرده بود، بلکه افزایش معنی‌داری نشان داد ($F=33.21, df=3$, $P\leq0.05$) و میانگین (±SD) آن به ۴۵/۶۶±۲۸/۷۸ میلی‌گرم در کیلوگرم رسید. در تیمار شاهد و تیمار تغذیه شده با غذای محتوی ۲۵ میلیگرم در کیلوگرم نانوذرات نقره، فلز نقره در بافت کلیه مشاهده نگردید.

نتایج این مطالعه نشان داد که در ماهیان گروه شاهد و غلظت پائین نانوذرات، نقره در بافت دستگاه گوارش تجمع نیافته بود. اما در ماهیان تغذیه شده با غلظت بالای نانوذرات، میانگین (±SD) تجمع نقره در دستگاه گوارش به میزان ۹/۵۷±۱۳/۰۸ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده گردید که پس از یک هفته تغذیه با غذای فاقد نانوذرات نقره، میزان آن به ۰/۴۸±۵/۲۵ کاهش یافته بود.

بر اساس نتایج بدست آمده، در مورد بافت ماهیچه تجمع نقره فقط در دو عدد از ماهی های تغذیه شده با غذای محتوی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات نقره اتفاق افتاده بود؛ در یکی از ماهیان که در پایان هفته پنجم نمونه برداری شده بود، میزان نقره ۱۴/۱۷ میلی‌گرم در کیلوگرم و در ماهی دوم که در پایان هفته ششم نمونه برداری شده بود، میزان نقره ۳/۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم اندازه گیری گردید. در سایر ماهیان تیمار تغذیه شده با غلظت بالای نانوذرات و نیز ماهیان تیمارهای شاهد و ماهیان تغذیه شده با غلظت پائین نانوذرات، تجمع نقره در ماهیچه مشاهده نگردید.

بحث

در مورد سمیت تغذیه‌ای نانومواد گزارشات اندکی وجود دارد. نتایج مطالعه Ramsden و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان داد که تغذیه با نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم بر شاخص‌های رشد و شاخص‌های خونی (هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز و یون سدیم پلاسما) ماهی قزل‌آلا تأثیر معنی‌داری نداشت؛ اما تجمع تیتانیوم در بافت های کبد، آبشش، مغز، طحال و دستگاه گوارش ماهیان مشاهده گردید. در مطالعه دیگری Wang و Li در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که تغذیه ماهی تیلاپیا با غذای حاوی نانوذرات کیتوزان تأثیری بر افزایش وزن روزانه، وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی نداشته ولی باعث بهبود کیفیت گوشت این ماهی می گردد. در مطالعه Fraser و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز نانو لوله‌های کربنی تک دیواره و فولرن تأثیری بر رشد و فاکتورهای خونی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان نداشتند. همچنین تأثیر نانوذرات طلا بر بیان ژن‌های مربوط به بازسازی DNA، سم زدایی، آپوپتوزیز، متابولیسم میتوکندری و استرس اکسایشی در مطالعه Geffroy و همکاران در سال ۲۰۱۱ مشهود بود و بعلاوه در غلظت‌های بالای این نانوذرات تجمع طلا در بافت‌های ماهیان مشاهده گردید. Merrifield و همکاران نیز در سال ۲۰۱۳ تغییر در ساختار جامعه میکروبی روده ماهیان گورخری متعاقب تغذیه با نانوذرات مس و نقره را نشان دادند. همانطور که مشاهده می‌شود، نتایج حاصل از این مطالعات متفاوت بوده و حاکی از آن است که نانوذرات گوناگون می توانند دارای اثرات متفاوت مثبت یا منفی بر روی گونه‌های مختلف ماهیان باشند.

در پژوهش حاضر، کاهش رشد ماهیان تغذیه شده با جیره‌های محتوی غلظت بالای نانوذرات نقره کاملا مشهود بود؛ این مسئله می‌تواند ناشی از عدم اشتهای ماهیان مذکور بر اثر مسمومیت با نانوذرات نقره باشد و به نظر می رسد ماهیان از طریق غذا نخوردن، سعی در مقابله با ورود ماده سمی به بدن داشته‌اند. کاهش اشتها یکی از اثرات مشاهده شده در مسمومیت ماهیان با فلزات می باشد (Atchison *et al*., 1987). همچنین کاهش رشد ماهیان متعاقب رویارویی تغذیه‌ای با آلاینده‌های زیست‌محیطی قبلا هم گزارش شده است که از آن جمله می توان به کاهش رشد آزاد ماهی اقیانوس اطلس تغذیه شده با جیره‌های غذایی محتوی مس (Lundebye *et al*., 1999) و کاهش رشد ماهی سوف تغذیه شده با جیره‌های غذایی محتوی متیل جیوه (Friedmann *et al*., 1996) اشاره نمود. یکی از دلایل عنوان شده در رابطه با کاهش رشد ماهیان بر اثر رویارویی با مواد سمی، اختلال در ترشح و عملکرد هورمون‌های تیروئیدی و هورمون رشد می باشد؛ به عنوان مثال تأخیر در بیان ژن هورمون رشد بر اثر رویارویی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با فلز کادمیوم مشاهده گردیده است (Jones *et al*., 2001)؛ همچنین تغییر در مقادیر هورمون های T3 و T4 در پلاسمای خون ماهیانی که در معرض آلاینده های زیست محیطی

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-07]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.1.3.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110159]

مختلف قرار داشته اند گزارش گردیده است (Sinha *et al*., 1991; Hontela *et al*., 1995; Zhou *et al*., 1999, 2000).

در این مطالعه بیشترین تجمع زیستی نقره به ترتیب در بافت‌های کبد، کلیه و دستگاه گوارش مشاهده گردید و تجمع این فلز در بافت ماهیچه تنها به صورت موردی در دو نمونه از ماهیان تغذیه شده با جیره‌های محتوی غلظت بالای نانوذرات نقره مشاهده گردید. با توجه به داده‌های بدست آمده میتوان نتیجه گرفت که در غلظت‌های بالاتر نانوذرات نقره احتمال تجمع نقره در بافت‌های مورد مطالعه ماهیان بالاتر است؛ البته در این رابطه انجام مطالعات گسترده‌تر و در نظر گرفتن محدوده وسیعتری از غلظت نانوذرات نقره در جیره غذایی ضروری به نظر می رسد. اگرچه تا به امروز گزارشی در مورد اثرات تغذیه با نانوذرات نقره بر تجمع این فلز در بافت‌های ماهیان منتشر نشده است، اما در سال ۲۰۰۱، Galvez و همکاران به این نتیجه رسیدند که تغذیه با جیره محتوی تیوسولفات نقره باعث تجمع فلز نقره در بافت های کبد، کلیه، دستگاه گوارش و پلاسمای خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می گردد.

نتایج سنجش نقره در بافت‌های مورد مطالعه ماهیان، پس از پایان دوره پاکسازی و زدایش نانوذرات نقره از بافت، بسیار جالب توجه بود. در مورد دستگاه گوارش، تجمع نقره تنها در ماهیان تغذیه شده با غلظت بالای نانوذرات نقره مشاهده شد که مقدار آن پس از یک هفته تغذیه با جیره عاری از نانوذرات کاهش یافت؛ اگرچه این کاهش نشان از امکان زدایش نانوذرات از بافت دستگاه گوارش دارد، اما مدت زمان یک هفته‌ای که در این پژوهش بدین منظور در نظر گرفته شده بود، برای زدایش کامل نانوذرات از سیستم گوارش کافی نبوده و بنابر این در مطالعات بعدی دوره‌های زدایش طولانی‌تری بدین منظور باید در نظر گرفته شود تا مشخص شود که آیا امکان حذف صددرصدی نانوذرات از دستگاه گوارش وجود دارد یا خیر؟. در مورد بافت کبد، در تیمار ماهیان تغذیه شده با غلظت بالای نانوذرات نقره، در پایان دوره پاکسازی نسبت به پایان دوره تغذیه با جیره محتوی نانوذرات، غلظت نقره بطور معنی‌داری کاهش یافته بود؛ در مقابل در تیمار ماهیان تغذیه شده با غلظت پائین نانوذرات نقره، این میزان بطور معنی‌داری افزایش یافته بود. این اختلافات می تواند بیانگر تأثیر غلظت نانوذرات، بر مکانیسم حذف و مدت زمان مورد نیاز برای پاکسازی آن‌ها از بافت کبد باشد. در پایان دوره پاکسازی یک هفته ای، همزمان با کاهش غلظت نقره در بافت کبد ماهیان تغذیه شده با غلظت بالای نانوذرات نقره، غلظت این فلز در بافت کلیه این ماهیان افزایش یافته بود؛ این مسئله می تواند نشان دهنده مسیر دفع این ماده از بدن ماهیان باشد، بطوریکه به نظر می رسد نقره جذب شده از طریق دستگاه گوارش، ابتدا در کبد ماهیان تجمع یافته و سپس به‌تدریج از کبد خارج و توسط کلیه از بدن دفع می گردد. البته انجام مطالعات گسترده‌تری به منظور اطمینان از این نحوه تجمع و دفع نانوذرات از بدن ماهیان در آینده ضروری به نظر می رسد.

جمع بندی نهائی مؤید آن است که نانوذرات نقره قابلیت جذب و ورود به بدن ماهیان از طریق دستگاه گوارش و تأثیر منفی بر اشتها و رشد ماهیان و نیز تجمع در بافت‌های مختلف آن‌ها را دارند. بنابراین جلوگیری از ورود این مواد جدید به چرخه غذایی زیستمندان ساکن بوم سازگان‌های آبی بسیار مهم و ضروری است. مطالعات گسترده‌تری در رابطه با سایر اثرات سمیت تغذیه ای نانوذرات نقره، همچون تأثیر بر فلور باکتریایی دستگاه گوارش، تأثیر بر یون‌ها و هورمون‌های پلاسما، تأثیر بر بیان ژن‌های مختلف و تأثیرات بافت شناسی در قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش ضروری به نظر می رسد.

منابع

جوهری، س.ع.، ۱۳۹۰. کاربرد نانوذرات نقره در کاهش عفونت‌های قارچی تخم در دوره انکوباسیون و اثرات احتمالی رهایش آن‌ها بر تغییرات برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و ژنومیکی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. رساله دوره‌ی دکترای تخصصی، دانشگاه تربیت مدرس. ۱۹۰ صفحه.

Asghari, S., Johari, S. A., Lee, J. H., Kim, Y. S., Jeon, Y. B., Choi, H. J., Moon, M. C. and Yu I.J., 2012. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna*. Journal of Nanobiotechnology. 10, 10-14.

Atchison, G. J., Henry, M. G. and Sandheinrich, M. B., 1987. Effects of metals on fish behavior: A review. Environmental Biology of Fishes. 18, 11-25.

Fraser, T. W., Reinardy, H. C., Shaw, B. J., Henry, T. B. and Handy, R. D., 2011. Dietary toxicity of single-walled carbon nanotubes and fullerenes (C60) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Nanotoxicology, 5(1), 98-108.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-07]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.1.3.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110159]

Friedmann, A. S., Watzin, M. C., Brinck-Johnsen, T. and Leiter, J. C., 1996. Low levels of dietary methylmercury inhibit growth and gonadal development in juvenile walleye (*Stizostedion vitreum*). Aquatic Toxicology. 35(3-4), 265–278.

Galvez, F., Hogstrand, C., McGeer, J. C. and Wood C.M., 2001. The physiological effects of a biologically incorporated silver diet on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic Toxicology. 55, 95–112.

Geffroy, B., Ladhar, C., Cambier, S., Treguer-Delapierre, M., Brèthes, D. and Bourdineaud, J. P., 2012. Impact of dietary gold nanoparticles in zebrafish at very low contamination pressure: the role of size, concentration and exposure time. Nanotoxicology. 6(2), 144-160.

Hontela, A., Dumont, P., Duclos, D. and Fortin, R., 1995. Endocrine and metabolic dysfunction in yellow perch, *Perca flavescens*, exposed to organic contaminants and heavy metals in the St. Lawrence River. Environmental Toxicology and Chemistry. 14, 725-731.

Johari, S. A., Kalbassi, M. R., Soltani, M. and Yu, I. J., 2013. Toxicity comparison of colloidal silver nanoparticles in various life stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Journal of Fisheries Sciences. 12(1), 76-95.

Jones, I., Kille, P. and Sweeney, G., 2001. Cadmium delays growth hormone expression during rainbow trout development. Journal of Fish Biology. 59, 1015-1022.

Lundebye, A. K., Berntssen, M. H. G., Wendelaar Bonga, S. E. and Maage A., 1999. Biochemical and physiological responses in Atlantic salmon (*Salmo salar*) following dietary exposure to Copper and Cadmium. Marine Pollution Bulletin. 39(1-12), 137–144.

Merrifield, D. L., Shaw, B. J., Harper, G. M., Saoud, I. P., Davies, S. J., Handy, R. D. and Henry, T. B., 2013. Ingestion of metal-nanoparticle contaminated food disrupts endogenous microbiota in zebrafish (*Danio rerio*). Environmental Pollution. 174, 157-163.

Ramsden, S. R., Smith, T. J., Shaw, B. J., Handy R.D., 2009. Dietary exposure to titanium dioxide nanoparticles in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): No effect on growth, but subtle biochemical disturbances in the brain. Ecotoxicology. 18, 939–951.

Salari Joo, H., Kalbassi, M. R., Yu, I. J., Lee, J. H., Johari, S. A., 2013. Bioaccumulation of silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Influence of concentration and salinity. Aquatic Toxicology. 140(141), 398-406.

Shahare, B., Yashpal, M. and Singh, G., 2013. Toxic effects of repeated oral exposure of silver nanoparticles on small intestine mucosa of mice. Toxicology Mechanisms and Methods. 23(3), 161–167.

Sinha, N., Lal, B. and Singh, T.P., 1991. Effect of endosulfan on thyroid physiology in the freshwater catfish, *Clarias batrachus*. Toxicology. 67, 187-197.

Wang, Y. and Li, J., 2011. Effects of chitosan nanoparticles on survival, growth and meat quality of tilapia, *Oreochromis nilotica*. Nanotoxicology. 5(3), 425-431.

Woodrow Wilson Database, 2014. Nanotechnology consumer product inventory. http://www.nanotechproject.org/cpi/about/analysis/ accessed at 10/14/2014.

Zhou, T., John-Alder, H. B., Weis, P. and Weis, J. S., 1999. Thyroidal status of mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) from a polluted versus a reference habitat. Environmental Toxicology and Chemistry. 18, 2817-2823.

Zhou, T., John-Alder, H. B., Weis, J. S. and Weis, P., 2000. Endocrine disruption: thyroid dysfunction in mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) from a polluted habitat. Marine Environmental Research. 50, 393-397.

http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-07]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.1.3.9]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110159]

Dietary toxicity of colloidal silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Johari, S. A.[(1)*]; Hosseini, S.[(1)]

* a.johari@uok.ac.ir

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

Keywords: Rainbow trout, Dietary toxicity, Aquatic nanotoxicology, Silver nanoparticles, Accumulation, Elimination.

Abstract

To evaluate the dietary toxicity of colloidal silver nanoparticles (AgNPs) in rainbow trout, fish were fed with diets containing 0, 20 and 50 $mg.kg^{-1}$ of AgNPs for 5 weeks and then were fed free nanoparticles diet for a week. During this period, fish growth, as well as silver accumulation and elimination in liver, kidney, gastrointestinal tract and muscle were studied. According to our results, high doses of AgNPs in the fish diet decreased appetite and fish growth. In addition, feeding fish with the diet containing AgNPs (especially at higher doses) increases the accumulation of silver in fish tissues (silver concentration in liver> kidney> gastrointestinal tract > muscle). Although, a one-week period considered for elimination of nanoparticles from fish tissues were not enough; however, caused some changes in the accumulation of silver in different organs of the fish. Observed effects due to fish feeding with diets containing silver nanoparticles, suggests that nanoparticle ingestion could affect the fish health. Therefore, preventing the entry of these new materials into the food chain of aquatic organisms seems to be necessary.

*Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-07]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.1.3.9]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110159]