ارزیابی سمیت سوسپانسیون آبی نانوذرات مگنتیت (Fe_3O_4) بر شاخص‌های زیستی آب شور (بارناکل) و آب شیرین (روتیفر)

سکینه مشجور[۱]، مرتضی یوسف‌زادی*[۱]، مجتبی علیشاهی[۲]

morteza110110@gmail.com*

۱- گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
۲- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۷

چکیده

با توجه به احتمال رهایش نانو ذرات به زیست‌بوم آبی، محدودیت گزارش‌های موجود و عدم شناخت صحیح از واکنش‌های زیستی احتمالی آن‌ها با زیستمندان آبزی، در پژوهش حاضر سمیت سوسپانسیون آبی نانو ذرات مگنتیت (Fe_3O_4) در جانداران زئوپلانکتونی مدل چون لارو بارناکل *Amphibalanus amphitrite* (شاخص آب شور) و روتیفر *Brachionus rotundiformis* (شاخص آب شیرین/ لب شور) ارزیابی گردید. برای این منظور غلظت‌های متوالی (۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) از نانوذرات مگنتیت در پلیت‌های ۲۴ خانه و در ۵ تکرار تهیه شده و پس از معرفی زئوپلانکتون‌های مذکور (۵۰ ناپلی بارناکل و۲۰ نوزاد روتیفر به هر چاهک)، حساسیت نمونه‌ها به سمیت نانوذرات در بازه زمانی ۱۲ تا ۴۸ ساعت ارزیابی شد. نتایج در پژوهش حاضر نشان می‌دهد که اثرات سمیت نانو ذرات مگنتیت بر لارو ناپلیوس بارناکل و نوزادان روتیفر با افزایش غلظت و نیز با افزایش مدت زمان رویارویی روند افزایشی را به دنبال داشته است و تفاوت‌ها میان تیمار و گروه شاهد معنی‌دار بوده است($p<0.05$). با این وجود، نرخ مرگ میر در بالاترین غلظت (۵۰۰ mg/l) پس از ۴۸ ساعت در بارناکل‌ها برابر ۶۲٪ (LC_{50}= ۴۶۶/۵ mg/l) و در روتیفرها ۳۴٪ (EC_{50}>۱۰۰۰mg/l) بوده است. صرفنظر از تفاوت‌های گونه‌ای بارناکل و روتیفر، بنابر نتایج بدست آمده نانو ذرات مگنتیت در گروه آلاینده های غیرسمی برای این دو جانور زئوپلانکتونی قرار می‌گیرند.

لغات کلیدی: سمیت، شاخص زیستی، زئوپلانکتون، نانوذرات Fe_3O_4، شوری

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.3.5.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117175]

مقدمه

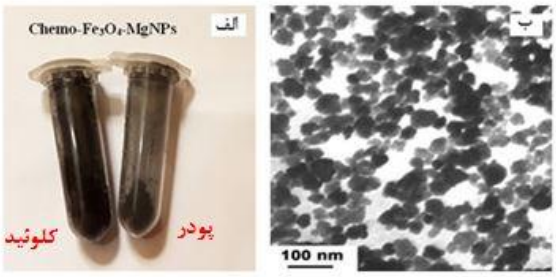
نظر به افزایش رو به رشد تولید و گسترش نانومواد اکسیدهای فلزی همچون ذرات اکسید آهن مغناطیسی در مقیاس نانو (مگنتیت یا Fe_3O_4) با تنوع کاربردی در حوزه‌های زیست‌پزشکی، داروسازی، محیط‌زیست و صنعت [نظیر تصویربرداری MRI[1] (Bulte *et al.*, 2001)، مگنتوفکشن[2]، انتقال ژن- دارو (Sunderland *et al.*, 2006) و نانوجاذب‌ها در تصفیه و پالایش پساب‌ها (Adeleye *et al.*, 2016)]، نرخ رهایش جهانی ۲۲-۸٪ نانوذرات مهندسی شده(ENM[3]) (مشتمل بر نانوذرات اکسید آهن)(Keller and Lazareva 2013)، ناکافی بودن اطلاعات و داده‌ها در ارتباط با پتانسیل اثرات منفی احتمالی نانو ذرات مگنتیت و پیش‌بینی احتمال دسترسی و مواجهه آن‌ها با زیستمندان در زیست‌بوم‌های آبی، اهمیت و ضرورت ارزیابی مخاطرات زیست‌محیطی آتی نانو مواد به عنوان نسل جدیدی از آلاینده‌ها را در بوم‌سازگان‌های دریایی دوچندان ساخته است، چراکه ورود این مواد به خاک و در نهایت مسیرهای آبی منتهی به دریاها و اقیانوس‌ها امری اجتناب‌ناپذیر به نظر می‌رسد(Ju-Nam and Lead, 2008). تاکنون در ارتباط با اثرات سمیت نانوذرات اکسید آهن مغناطیسی Fe_3O_4بر زئوپلانکتون‌های شاخصی چون روتیفر و بارناکل گزارشی در سطح جهان منتشر نشده است. یکی از شاخص‌های زیستی حساس نسبت به تغییرات سلامت زیست بوم آبی، جانداران زئوپلانکتونی هستند که در سال‌های اخیر در حوزه نانوبوم‌سم‌شناسی گزارشاتی مبنی بر استفاده از مدل‌های زئوپلانکتونی چون دافنی (*Daphnia* spp)و آرتمیا (*Artemia* spp) (جوهری و همکاران، ۱۳۹۵; محمدی و همکاران ۱۳۹۵; Blinova *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2016; Nogueira *et al.*, 2015; Gambardella *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2017) ارائه شده است. با این وجود تاکنون در ارتباط با واکنش‌زیستی زئوپلانکتون‌های شاخص آب شیرین تا لب شور نظیر روتیفرها و یا همتای مشابه آن در آب‌های شور و دریایی نظیر سخت‌پوستانی همچون بارناکل‌ها نسبت به اثرات سمیت نانوذرات اکسید آهن مغناطیسی Fe_3O_4 و تفاوت عملکردی نانو ذرات مگنتیت در محیط‌هایی با شوری متفاوت گزارشی در سطح جهان منتشر نشده است. روتیفر و بارناکل‌ها جانورانی میکروسکوپی و مژه‌دار هستند که قادراند پوده‌های آلی را از محیط‌های آبی جذب نموده و نقشی کلیدی را در بازچرخش موادمغذی در ستون آب ایفا نمایند (Baker *et al.*, 2014). از جمله مطالعاتی که در سال‌های اخیر در ارتباط با نانو ذرات و اثرات آن بر روتیفرها گزارش شده است پژوهش Snell و Hicks (۲۰۱۱) است که نشان می‌دهد که روتیفرهای *Brachionus manjavacas* که به مدت ۲ روز در معرض نانو ذرات قرار گرفته بودند، توانسته‌اند، نانوذراتی با اندازه ۸۳ نانومتر را در معده و روده خود تجمیع نموده و نانوذرات با اندازه ۳۷ نانومتر را به بافت‌های دیواره روده خود انتقال دهند. از این رو، در جذب و نفوذ نانو ذرات به بافت جانداران، اندازه نانو ذرات بسیار حائز اهمیت است. از جمله معدود گزارش‌ها در ارتباط با اثرات نانوذرات بر بارناکل‌ها می‌توان به پژوهش‌های Bhargava و همکاران (۲۰۱۸) اشاره نمود که بواسطه ردیابی نانوذرات PMMA رنگ آمیزی شده با رنگ فلورسنس PTE[4] درون بدن بارناکل *Amphibalanus amphitrite* نشان دادند که نانوذرات در طول مراحل دگردیستی بارناکل درون بدنشان پایدارند. با این حال، کماکان سمیت سنجی نانوذرات مگنتیت (Fe_3O_4) در بارناکل‌ها نامکشوف است. از این رو، در پژوهش حاضر طی اقدامی پیشگام در ارزیابی سمیت نانو-زئوپلانکتونی سوسپانسیون آبی نانوذرات مگنتیت (Fe_3O_4)از دو جاندار زئوپلانکتونی مدل مشتمل بر روتیفر *B. rotundiformis* (گونه ایی یوری‌هالین و شاخص آب های شیرین/ لب شورتا شور) و لارو بارناکل *A. amphitrite* (شاخص ماکروفولینگ در آب های دریایی) استفاده گردید.

[1]-Magnetic resonance imaging
[2]-Magnetofection
[3]-Engineered nanomaterials
[4]-Perylene tetraester

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.3.5.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117175]

مواد و روش کار

در مطالعه حاضر، پودر خالص و سیاه رنگ نانو ذرات اکسید آهن مغناطیسی مگنتیت (Fe_3O_4) که به روش شیمیایی تولید شده‌اند با درجه خلوص ۹۹/۵٪ بدون پوشش با محدوده اندازه ذرات ۲۰-۱۵ نانومتر و شکل کروی (محصول شرکت US NANO، آمریکا)، خریداری شدند. برخی ویژگی‌های این محصول همچون شکل، توزیع ذرات و اندازه نانو ذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره (Transmission Electron Microscopy: TEM) (FEI، آمریکا) سنجش گردید (شکل ۱، جدول ۱).



شکل۱: الف) نمایی از نانوذرات اکسید آهن مغناطیسی در حالت پودری و کلوئیدی، ب) تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) از نانوذرات درمقیاس ۱۰۰ نانومتر.

Figure 1: A- View of magnetic iron oxide nanoparticles in powder and colloid state B- TEM image of nano- Fe_3O_4 sample (scale:100nm).

جدول۱: ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذرات مگنتیت (Fe_3O_4)که توسط شرکت سازنده (US NANO) ارائه شده است.

Table 1: Physicochemical properties of magnetite nanoparticles (Fe_3O_4) provided by the manufacturer (US NANO).

خصوصیات فیزیکوشیمیایی نانوذرات Fe_3O_4	مقادیر
درصد خلوص	+٪۹۹/۵
میانگین اندازه ذره	۱۵-۲۰ nm
BET	۸۱/۹۸ m^2/g
رنگ	سیاه تا قهوه ای تیره
ریخت شناسی	کروی (Spherical)
چگالی جرمی	~ ۰/۸۵ g/cm^3
چگالی خالص	۴/۸-۵/۱ g/cm^3
پتانسیل زتا	+ ۱۷/۲±۶/۰۷ mv
اندازه ذره بر مبنای انالیز TEM	۸/۰۵ nm
قدرت مغناطیسی	۴۰/۷۵ emu g^{-1}

برای دستیابی به یک سوسپانسیون پایدار و نیز اجتناب از ته‌نشینی نانو ذرات Fe_3O_4، استوک‌های تهیه شده از غلظت‌ها به مدت ۴ ساعت در دستگاه اولتراسونیکانتور از نوع حمام دار (Elma، آلمان) با شرایط (۱۰۰W و ۴۰kHz) و با فواصل زمانی خاموش/ روشن دستگاه (۱۰:۳۰ دقیقه) سونیکیت شدند (Hao and Chen, 2012). به منظور آزمون سمیت سنجی ۴۸ ساعته بارناکل، پس از مراجعه میدانی به سواحل بندرعباس در بازه زمانی جذر توده‌های ماکروفولینگ بارناکل‌های بالغ گونه *A. amphitrite* که چسبیده به تخته سنگ‌ها بودند، جمع‌آوری شده و در آزمایشگاه پس از حذف سایر گونه‌های بایوفولینگ، چندین بار با آب لوله شستشو شدند. سپس این سنگ‌ها درون ظروف کوچک دو لیتری محتوی آبی با دمای ۲۵°C و شوری ۳۰‰ و هوادهی مناسب قرار گرفتند (شکل ۲- الف). پس از گذشت ۱۲ ساعت لاروهای تازه تخم گشایی شده ناپلیوسی اینستار I وII بارناکل برمبنای نورگرایی مثبت آنها و با ایجاد باریکه نقطه ای از نور با استفاده از پیپت جمع‌آوری شده و به یک بشر منتقل گردیدند (Chen *et al.*, 2008). در ادامه با هدف سمیت‌سنجی و طی یک رویکرد مشابه با سمیت‌سنجی ترکیبات شیمیایی برای سخت‌پوستانی چون دافنی (*Daphnia* spp)، مطابق با رهنمود استاندارد شماره ۲۰۲ "سازمان توسعه و همکاری اقتصادی" (OECD, 2004)، رقت‌های متوالی از نانو ذرات مگنتیت در غلظت‌های (۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در ۵ تکرار درون چاهک‌های پلیت‌های کشت سلول ۲۴ خانه با احتساب گروه شاهد (فاقد نانو ذرات) ایجاد گردیده و به هر چاهک ۵۰ ناپلی بارناکل اضافه گردید. در سمیت‌سنجی ۴۸ ساعته روتیفر نیز مطابق بر روش استاندارد (Snell, 1998) و توصیه پیشنهادی Snell و Hicks (۲۰۱۱) از سویه *B. rotundiformis* تیپ S استفاده شد. روتیفرهای بالغ از ایستگاه تحقیقاتی تکثیر و پرورش ماهیان دریایی بندر امام خمینی تهیه شده و در این مرکز در آب با شوری ۲۵ ‰، دمای ۳۲°C-۲۸، ۸/۱-۷/۹ pH- و تاریکی عمدتاً به هدف تکثیر برای تغذیه

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.3.5.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117175]

بچه‌ماهیان دریایی نگهداری می‌شوند. ولی با توجه به اینکه این گونه روتیفر یک گونه یوری‌هالین است و قادر به تحمل طیف وسیعی از شوری از ۱ تا بیش از ‰۴۰ می‌باشد و بنابر گزارش Sarma و همکاران (۲۰۱۴) این گونه در شوری ۶-۹ نیز بهینه رشد را نشان داده است، در تحقیق حاضر برای زیست آزمون سمیت‌سنجی نانوذرات اکسیدآهن مگنتیت، این روتیفرها در آب شیرین (آب شهری اهواز) و به عنوان شاخص آب شیرین مورد ارزیابی قرار گرفتند (شکل ۲- ب). برای این منظور نوزادهای تازه از تخم خارج شده روتیفر توسط میکروپیپت جمع‌آوری و مطابق بر راهنمای استاندارد (USEPA, 1985) و در همان طیف غلظتی مشابه سمیت‌سنجی بارناکل‌ها در تعداد ۲۰ نوزاد به ازای هر چاهک در پلیت ۲۴ خانه با ۵ تکرار برای هر غلظت توزیع شدند. سپس تعداد تلفات بارناکل‌ها در ساعات ۲۴ و ۴۸ و تعداد تلفات نوزادان روتیفرهای در ساعات ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ بعد از رویارویی با نانوذرات مگنتیت و مشاهده توسط میکروسکوپ نوری ثبت شده و درصد مرگ و میر آن‌ها در غلظت‌های مختلف محاسبه گردید. برای تعیین درصد مرگ و میر در غلظت‌های متفاوت و محاسبه LC_{50} از نسخه ۱/۵ نرم افزار EPA Probit Analysis (منتشر شده توسط سازمان حفاظت محیط زیست امریکا) استفاده شد.

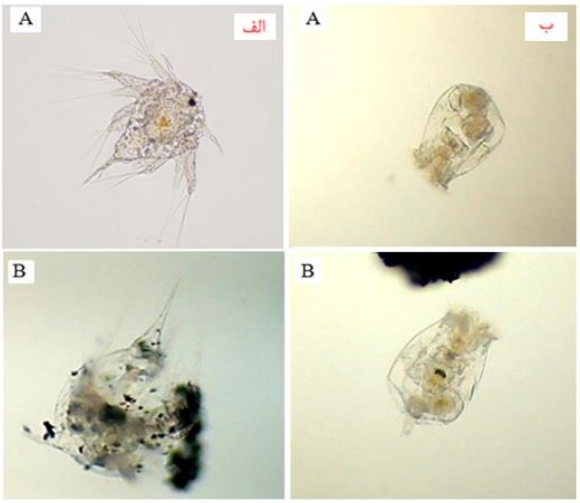
شکل ۲ نمایی از محیط تکثیر و پرورش بارناکل *Amphibalanus amphitrite* (الف) و روتیفر *Brachionus rotundiformis* (ب) در آزمایشگاه.

Figure 2: View of the barnacle, *Amphibalanus amphitrite* (A) and rotifer, *Brachionus rotundiformis* (B) hatching and rearing laboratory conditions.

نتایج

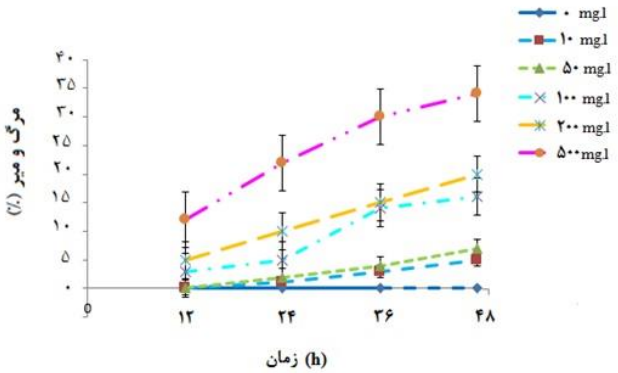
همانطوریکه در شکل ۳ مشاهده شد، ۲۴ ساعت پس از رویارویی ناپلیوس‌های بارناکل و نوزادان روتیفر با نانو ذرات مگنتیت (Fe_3O_4)، این نانو ذرات در معده و مجاری گوارشی آنها به صورت کلوخه‌های سیاهرنگ تجمع یافته و این امر می‌تواند از دلایل اصلی بروز اثرات سمیت و تلفات در این دو جاندار باشد. آنالیز داده‌ها در پژوهش حاضر نشان می‌دهد که اثرات سمیت نانو ذرات مگنتیت بر لارو ناپلیوس بارناکل و نوزادان روتیفر با افزایش غلظت و نیز با افزایش مدت زمان رویارویی روند افزایشی را بدنبال داشته است و تفاوت‌ها میان گروه تیمار و شاهد معنی‌دار بوده است ($p<0.05$) (شکل ۴، جدول ۲). با توجه به نتایج ارائه شده در جدول شماره ۲، در گروه تیمار و در بالاترین غلظت (۵۰۰ mg/l)، نرخ مرگ و میر در ناپلیوس‌های بارناکل پس از ۲۴ ساعت رویارویی با نانو ذرات مگنتیت برابر۴۰٪ بوده و با افزایش مدت زمان رویارویی تا ۴۸ ساعت، میزان مرگ و میر تا ۶۲٪ نیز افزایش یافته است که نشان دهنده سمی بودن نانو ذرات Fe_3O_4 برای بارناکل‌ها و حساسیت نسبتاً بالای مرحله ناپلیوسی لاروهای بارناکل نسبت به این ماده است.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.3.5.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117175]



شکل۳: تصویر میکروسکوپی از بارناکل *Amphibalanus amphitrite* (گروه الف) و روتیفر *Brachionus rotundiformis* (گروه ب) پس از گذشت ۲۴ ساعت از رویارویی با نانو ذرات مگنتیت. تجمع سیاهرنگ نانوذرات در معده این زئوپلانکتون‌ها در گروه تیمار (B) در مقایسه با گروه شاهد (A) با معده خالی قابل تشخیص است (بزرگنمایی ۴۰۰x).

Figure 3: Photomicrograph of the barnacle, *Amphibalanus amphitrite* (A) and rotifer, *Brachionus rotundiformis* (B) revealing the accumulated magnetite iron oxide nanoparticles inside the stomach after 24 h of exposure to magnetite nanoparticles. (A) control group with empty gut, and (B) Treatment group (400x magnification).



شکل۴: نرخ مرگ و میر روتیفر (*Brachionus rotundiformis*) تحت تاثیر افزایش زمان و غلظت نانوذرات مگنتیت.

Figure 4: The mortality rate of rotifer (*Brachionus rotundiformis*) is influenced by the increase in time and concentration of magnetite nanoparticles.

جدول۲: نرخ مرگ و میر بارناکل (*Amphibalanus amphitrite*) تحت تاثیر افزایش زمان و غلظت نانوذرات مگنتیت.

Table 2: The mortality rate of barnacle (*Amphibalanus amphitrite*) is influenced by the increase in time and concentration of magnetite nanoparticles.

جانور آبزی	دوره زمانی (ساعت)	درصد مرگ و میر/غلظت (mg/L)						EC_{50} (mg/L)
		۰	۱۰	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۵۰۰	
Amphibalanus amphitrite (nauplii)	۲۴	۰±۰	۰±۰	۱۰/۲±۰/۵	۱۶/۰±۰/۳	۲۶/۰±۰/۷	۴۰/۰±۰/۲	۵۸۳/۸
	۴۸	۰±۰	۱۶/۰±۲/۰	۳۴/۲±۰/۴	۴۲/۳±۰/۱	۵۴/۰±۰/۲	۶۲/۰±۲/۰	۴۶۶/۵

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.3.5.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117175]

غلظت ایجاد کننده‌ی ۵۰٪ تلفات (LC_{50}) نیز در ناپلیوس بارناکل پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت رویارویی با نانو ذرات مگنتیت به ترتیب برابر ۵۸۳/۸ و ۴۶۶/۵ میلی‌گرم در لیتر بود (جدول ۲). برخلاف بارناکل‌ها نتایج بدست آمده از روتیفرها و رویارویی ۴۸ ساعته آنها با نانو ذرات مگنتیت نشان داد که سمیت این نانو ذرات بر روتیفرها تا حدودی خفیف‌تر بوده و نرخ مرگ و میر آنها با افزایش زمان مجاورت از ۱۲ تا ۴۸ ساعت در بالاترین غلظت از ۵٪ به ۳۴٪ (EC_{50}>۱۰۰۰mg/l) نیز رسید (شکل ۴).

بحث

در راستای پیروی از رهنمود OECD (۲۰۱۴) مبنی بر بوم‌سم‌شناسی و تعیین سرنوشت زیست‌محیطی نانو مواد در محیط زیست آبی و با توجه به اینکه پیش از این پژوهش، اطلاعات بسیار محدودی آنهم تنها در ارتباط با ارزیابی پتانسیل خطر نانو ذرات مگنتیت غیرارگانیک (شیمیایی) در جانداران زئوپلانکتونی همچون آرتمیا *Artemia* spp (Gambardella *et al.*, 2014) و دافنی *Daphnia* spp (Blinova *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2016) موجود بوده است و این جانوران به عنوان مدل‌های جانوری نانوبوم‌سم‌شناسی و نیز نمایندگانی از گروه مصرف‌کنندگان ثانویه در هرم ماده و انرژی در زنجیره‌های غذایی آبزیان از جایگاه بسیار مهمی برخوردار بوده‌اند و می‌توانند ایفاگر نقش انتقال دهندگی نانو مواد حتی به سطوح بالاتر زنجیره‌های غذایی باشند (Zhu *et al.*, 2010a)، از این رو در مطالعه حاضر سنجش سمیت حاد نانو ذرات Fe_3O_4 در دوجاندار زئوپلانکتونی مدل از آب های شور و شیرین ارزیابی و مقایسه گردید. یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که اثرات سمیت نانو ذرات مگنتیت بر لارو ناپلیوس بارناکل و نوزادان روتیفر تابعی از غلظت و زمان رویارویی با نانو ذرات مگنتیت بوده و این نانو مواد با توجه به نرخ تلفات در این دو جاندار، پتانسیل‌هایی از سمیت زئوپلانکتونی را بروز داده‌اند. این توان سمیت‌زایی می‌تواند متاثر از، کینتیک و فعالیت کاتالیکی ذرات در اندازه نانویی(Ates *et al.*, 2013)، افزایش مساحت سطح به حجم، مثبت‌بودن پتانسیل زتا (جدول ۱)، احتمال اثرات القایی برهمکنش الکترومغناطیس نانوذرات مگنتیت شیمیایی (بار مثبت) با غشای سطحی سلولی (بار منفی) و تشدید اثرات اکسایشی و تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS[1])، باشد. با این حال، نظر به دسته‌بندی ارائه شده توسط سازمان ملل متحده آمریکا (United Nation, 2009)، مبنی بر این که چنانچه ماده ایی در آبزیان دارای سمیت حاد با LC_{50} ۹۶ h بیشتر از ۱۰۰ mg/l باشد، جز مواد غیر سمی تلقی می‌گردد، در تحقیق حاضر نانوذرات Fe_3O_4 در گروه آلاینده های غیرسمی برای جانداران زئوپلانکتونی مورد آزمون قرار می‌گیرند. نتایج مشابهی نیز در ارتباط با سمیت سوسپانسیون آبی نانو ذرات اکسید آهن در سایر زئوپلانکتون‌ها همچون روتیفر *B. plicatilis*، دافنی *D. magna* و آرتمیا *A. saline* گزارش شده است (Nogueira *et al.*, 2015; Blinova *et al.*, 2017; Gambardella *et al.*, 2014). یکی از شواهد پژوهش حاضر مبنی بر وجود پتانسیل سمیت زئوپلانکتونی نانو ذرات Fe_3O_4، مشاهده تجمع و کلوخه‌ای شدن نانو ذرات مگنتیت در معده و مجاری گوارشی این جانداران بوده است که می‌تواند از جمله دلایل احتمالی بروز تلفات در این جانداران باشد، زیرا هر دوی این جانوران زئوپلانکتونی همانند دافنی و آرتمیا جزء گروه صافی خواران بوده و در امر تغذیه، دارای رفتار تغذیه غیرانتخابی هستند و قادرند جلبک‌ها، باکتری‌ها و ریزه‌ذرات بترتیب با طیف اندازه ۳/۵-۰/۳، ۳-۰/۳ و ۲≤ -۰/۳> میکرون و نیز هر نوع ذره‌ای با اندازه کوچکتر از ۵۰ میکرون را جذب نمایند (Vadstein *et al.*, 1993). لذا، اندازه نانو ذرات در توانایی جذب و نفوذ آنها به معده و بافت‌های این جانداران و القاء اثرات سمیت ثانویه نقش تعیین کننده‌ای داشته (Snell and Hicks, 2011) و این امر جذب نانوذرات توسط زئوپلانکتون‌ها را بسیار آسان نموده است. همانطوریکه در شکل ۳ قابل مشاهده است، این نانو ذرات توانسته‌اند به ماتریکس، سودوسلوم و مجاری روده‌ایی این جانداران زئوپلانکتونی نفوذ داشته باشند. با این وجود، بر

[1]-Reactive oxygen species (ROS)

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.3.5.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117175]

خلاف گزارش Gambardella و همکاران (۲۰۱۴)، مبنی بر اینکه در ناپلیوس‌های آرتمیا توان زدایش[1] این کلوخه‌های نانوذره‌ای تا حدودی پتانسیل سمیت‌زایی نانو ذرات مگنتیت را بر *A. saline* تعدیل بخشده است. در مطالعه حاضر نرخ تلفات نسبتاً بالای بارناکل‌های *A. amphitrite* با این امر در تضاد بوده است و بنظر می‌رسد اختلافات عمدتاً ناشی از تفاوت‌های ریخت شناسی، آناتومیک و شکل مجاری گوارشی در بارناکل‌ها نسبت به آرتمیاها باشد، زیرا در بارناکل‌ها و روتیفرها همچون *D. magna* مجاری روده‌ای تا حدی پیچ‌دار هستند و نظیر آرتمیاها یک راست و مستقیم نمی‌باشد (Zhu *et al.*, 2010b; Lu *et al.*, 2018). از اینرو، این جانداران نمی‌توانند عمل دفع را به تمامی انجام دهند و با تمدید زمان مجاورت و سخت و حجیم شدگی تجمعات نانوذره ای، این جانداران دیگر قادر به جذب ذرات غذایی و عمل دفع نمی‌باشند و لذا محکوم به مرگ خواهند بود. با توجه به اینکه تحقیق حاضر طیف غلظتی نسبتاً وسیعی از نانو ذرات مگنتیت (۱۰- ۵۰۰ mg/l) را پوشش داده است و این نانو ذرات اثرات سمیت بیشتری را بر بارناکل‌ها (ساکنین آب‌هایی با شوری بالا) نسبت به روتیفرها (ساکنین آب‌های شیرین) نشان داده‌اند. بنظر می‌رسد پیامدهای زیست محیطی رهایش نانو ذرات مگنتیت در سیستم‌های زیستی دریایی قابل چشم‌پوشی نیست و در رویارویی طولانی مدت‌تر ممکن است تهدیدی برای زنده‌مانی و دوام جمعیت‌های زئوپلانکتونی محسوب شوند. بعلاوه، در ارتباط با وابستگی افزایش سمیت نانوذرات با شوری نیز، بایست توجه داشت که اساساً عوامل مداخله‌گر یونی موثر در تغییر ویژگی‌های الکترواستاتیک و جذب سطحی نانو ذرات، در آب‌های شیرین کمتر است و در واقع، مهمترین تاثیر شوری طی برهمکنش با نانو ذرات، کاهش پایداری نانوذرات، القاء اثرات کلوئیدی- تجمعی در آب و تسریع فرآیند رسوب‌گذاری آنهاست و در اکثریت گزارش‌های ارائه شده نیز این عوامل در تعدیل سمیت نانو ذرات در آب‌های شور نسبت به آب شیرین بسیار موثر دانسته شده‌اند (Lapresta-Ferna´ndez *et al.*, 2012)، با این وجود، بنا بر نتایج ارائه شده در پژوهش حاضر این احتمال نیز می‌رود که شوری در جذب سطحی، تجمع و کلوخه ایی شدن بیشتر نانو ذرات در معده بارناکل‌ها در قیاس با روتیفرها و به تبع آن سمیت‌زایی بیشتر آن در زیستمندان آب‌های شور در قیاس با آب شیرین تاثیر گذار باشد (Lapresta-Ferna´ndez *et al.*, 2012)، زیرا با توجه به بیشتر بودن چگالی آب شور در قیاس با آب شیرین و به تبع آن افزایش تعداد برخی ضمائم تعادلی در اسکلت خارجی زئوپلانکتون‌های آب شور نظیر ستاها، شاخک‌ها و آنتنک‌ها نسبت به زنوپلانکتون‌های آب شیرین، نشست و جذب بیشتر نانو ذرات مگنتیت بر ضمائم بدن زئوپلانکتون‌های آب‌های شور وزن مخصوص این جانداران را افزایش داده است و این امر منجر به کندی شنا، شناوری نامتعادل و از دست رفت سهم بیشتری از انرژی (Zhang *et al.*, 2016) و در نتیجه افزایش نرخ مرگ و میر آنها در قیاس با همتای ساکن آب شیرین می‌گردد. در شکل ۳ نیز مقایسه میزان نشست نانوذرات مگنتیت بر سطح بارناکل ها نسبت به روتیفرها این تفاوت را بوضوح نشان می‌دهد. هرچند اختصاصات گونه‌ای نیز می‌تواند در بروز سمیت در سطح زئوپلانکتون‌ها اثرگذار باشد و به عنوان نمونه نتایج سمیت نانوذرات مگنتیت در ناپلی آرتمیا *A. salina* در غلظت ۵۰۰ mg/l تنها ۴٪ گزارش شد و جذب سطحی نانوذره به ضمائم اسکلتی نیز مشاهده نشد (Mashjoor *et al.*, 2015). از سویی، سمیت نانو ذرات در ارگانیسم‌ها به حمل یون‌های آنها نیز نسبت داده می‌شود که آسیب‌های نگران کننده‌ای را بر غشای سلولی و نیز دیگر ترکیبات درون‌سلولی وارد می‌سازد و عمدتاً در ارتباط با استرس اکسیداتیو، اثرات القایی آن بر DNA، لیپوپروتئین‌ها و فعالیت‌های معین متابولیسمی است که می‌تواند وابسته به فاکتورهای مختلفی چون طبیعت نانوذره، شکل، اندازه ذره و برخی فاکتورهای محیطی چون شوری، دما و اکسیژن محلول باشد از این رو برهمکنش های نانو ذرات با پدیده‌های زیستی در آب‌های شور و شیرین نتایج متفاوتی را نشان داده است (Lapresta-Ferna´ndez *et al.*,

[1]-Elimination

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.3.5.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117175]

(2012، هرچند هنوز بدرستی مشخص نیست که سمیت نانو ذرات تا چه میزان مربوط به یون‌های آزاده شده از آنها و چه میزان مربوط به خود نانو ذرات می‌تواند باشد. در همین راستا Kim و همکاران (۲۰۰۹) پیشنهاد می‌کنند که سمیت نانو ذرات نقره به دلیل تنش اکسایشی ناشی از این ذرات، مستقل از سمیت نقره یونی است. با این وجود تاکنون هیچ مطالعه‌ای نتوانسته نشان دهد که نانوذرات اکسیدهای فلزی (Me(O)NPs) در غلظت‌های زیست محیطی سمیتی بالاتر از یون‌هایشان را بروز خواهند داد، زیرا حضور مواد آلی طبیعی (NOM[1]) و سایر پیچیدگی‌های زیست‌محیطی در بوم‌سازگان‌های آبی می‌تواند سمیت نانو ذرات را تعدیل بخشیده (Baker *et al.*, 2014) و پیامدهای پیش بینی نشده‌ای را نیز به نمایش گذارد. در انتها می‌توان عنوان نمود که پژوهش حاضر ضمن ارتقاء دانش و درک نانوبوم‌سم‌شناسی از رفتار و تاثیرپذیری سمیت نانوذرات مگنتیت در محیط های آبی شور و شیرین نشان می‌دهد که جانداران زئوپلانکتونی چون بارناکل‌ها و روتیفرها نسبت به اثرات آلایندگی نانو ذرات مگنتیت تاثیرپذیر بوده و می‌توانند شاخص‌های زیستی مناسبی برای پیش‌بینی اثرات احتمالی رهایش نانو مواد به بوم‌سازگان‌های آبی باشند. از اینرو، بهره‌برداری بیشتر از آنها در سایر پژوهش‌های آتی توصیه می‌گردد.

منابع

جوهری، س.ع.، نعمتی، ط. و دکانی، ل. ۱۳۹۵. بررسی قابلیت انباشت نانوذرات اکسیدروی در آرتمیا و انتقال تغذیه‌ای آن به ماهی دانیوگورخری(*Danio rerio*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۹-۲۱ :۲۵(۱). DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110220

محمدی، ش.، سروری مغانلو، ک.، آتشبار، ب. و ایمانی، ا. ۱۳۹۵. مطالعه اثرات مزمن نانو ذرات نقره بر رشد، بازماندگی و ویژگی‌های تولید مثلی آرتمیای دریاچه ارومیه(*Artemia urmiana*). مجله علمی شیلات ایران، ۷۵-۶۳ :۲۵(۴). DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110299

Adeleye, A.S., Conway, J.R., Garner, K., Huang, Y., Su, Y., and Keller, A.A., 2016. Engineered nanomaterials for water treatment and remediation: Costs, benefits, and applicability. Chemical Engineering Journal, 286: 640-662. DOI: 10.1016/j.cej.2015.10.105

Ates, M., Daniels, J., Arslan, Z., and Farah, I.O., 2013. Effects of aqueous suspensions of titanium dioxide nanoparticles on Artemia salina: assessment of nanoparticle aggregation, accumulation, and toxicity. Environmental Monitoring and Assessment, 185(4): 3339-3348. DOI: 10.1007/s10661-012-2794-7

Baker, T.J., Tyler, C.R., and Galloway, T.S., 2014. Impacts of metal and metal oxide nanoparticles on marine organisms. Environmental Pollution, 186: 257-71. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.11.014

Bhargava, S., Lee, S.S.C., Ying, L.S.M., Neo, M. L., Teo, S. L.M., Valiyaveettil, S., 2018. Fate of Nanoplastics in Marine Larvae: A Case Study Using Barnacles, *Amphibalanus amphitrite.* ACS Sustainable Chemistry and Engineering, DOI: 10.1021/acssuschemeng.8b00766

Blinova, I., Kanarbik, L., Irha, N., and Kahru, A., 2017. Ecotoxicity of nanosized magnetite to crustacean *Daphnia magna* and duckweed *Lemna minor*, Hydrobiologia, 798: 141-149. DOI: 10.1007/s10750-015-2540-6

[1]-Natural organic matter (NOM)

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.3.5.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117175]

Bulte, J.W., Douglas, T., Witwer, B., Zhang, S. C., Strable, E., Lewis, B.K., Zywicke, H., Miller, B., van Gelderen, P., Moskowitz, B.M., Duncan, I.D., and Frank, J.A., 2001. Magnetodendrimers allow endosomal magnetic labeling and *in vivo* tracking of stem cells. *Nature Biotechnology*, 19:1141-1147. DOI: 10.1038/nbt1201-1141

Chen, J.D., Feng, D.Q., Yang, Z.W., Wang, Z.C., Qiu, Y., and Lin, Y.M., 2008. Antifouling metabolites from the mangrove plant *Ceriops tagal*. *Molecules*, 13(2): 212-219. DOI: 10.3390/molecules13020212

Gambardella, C., Mesaric, T., Milivojevic, T., Sepcic, K., Gallus L., Carbone S., Ferrando S., and Faimali, M., 2014. Effects of selected metal oxide nanoparticles on *Artemia salina* larvae: evaluation of mortality and behavioural and biochemical responses. Environmental Monitoring and Assessment, 186: 4249-59. DOI: 10.1007/s10661-014-3695-8

Hao, L. and Chen. L., 2012. Oxidative stress responses in different organs of carp (*Cyprinus carpio*) with exposure to ZnO nanoparticles. Ecotoxicology and Environmental Safety, 80, 103-110. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2012.02.017

Ju-Nam, Y., and Lead, J.R., 2008. Manufactured nanoparticles: an overview of their chemistry, interactions and potential environmental problems. Science of the Total Environment, 400, 396-414. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.06.042

Keller, A.A., Lazareva, A., 2013. Predicted releases of engineered nanomaterials: from global to regional to local. Environmental Science and Technology Letters. 1:65-70. **DOI:** 10.1021/ez400106t

Kim, S., Choi, J.E., Choi, J., Chung, K.H., Park, K., Yi, J., and Ryu, D.Y. 2009. Oxidative stress dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. Toxicology In Vitro, 23: 1076-1084. DOI: 10.1016/j.tiv.2009.06.001

Lapresta-Ferna´ndez, A., Ferna´ndez, A., and Blasco, J., 2012. Nanoecotoxicity effects of engineered silver and gold nanoparticles in aquatic organisms. Trends in Analytical Chemistry, 32: 40-59. DOI: 10.1016/j.trac.2011.09.007

Liu, Y., Fan, W., Xu, Z., Peng, W., Luo, S., 2017. Transgenerational effects of reduced graphene oxide modified by Au, Ag, Pd, Fe_3O_4, Co_3O_4 and SnO_2 on two generations of *Daphnia magna*. *Carbon*, 122: 669-679. DOI: 10.1016/j.carbon.2017.06.087

Lu, J., Tian, S., Lv, X., Chen, Z., Chen, B., Zhu, X., and Cai, Z., 2018. TiO_2 nanoparticles in the marine environment: Impact on the toxicity of phenanthrene and Cd^{2+} to marine zooplankton *Artemia salina*. *Science of the Total Environment*, 615: 375-380. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.292

Mashjoor, S., Yosefzadi, M., Alishahi, M., Shokoohmand, M., and Molayemraftar, T., 2015. Toxicity assessment of $BioFe_3O_4$ and Fe_3O_4 magnetic nanoparticles on nauplii and adults of brine shrimp (*Artemia salina*). Middle. East. Central. Asia. Aqua.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.3.5.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117175]

Confer, 14-16 Dec, Tehran. Iran, 2015, pp. 275.

Nogueira, V., Lopes, I., Rocha-Santos, T. A. P., Rasteiro, M. G., Abrantes, N., Goncalves, F., Soares, A. M. V. M., Duarte, A. C., and Pereira, R., 2015. Assessing the ecotoxicity of metal nano-oxides with potential for wastewater treatment. Environmental Science and Pollution Research, 22(17): 13212-13224. DOI: 10.1007/s11356-015-4581-9

OECD., 2004. OECD Guideline for the Testing of Chemicals", Test No. 202: Daphnia sp., Acute Immobilisation Test and Reproduction, Paris, France.

OECD., 2014. Ecotoxicology and environmental fate of manufactured nanomaterials: test guidelines. expert meeting report. Series on the safety of manufactured nanomaterials No. 40. ENV/JM/MONO(2014)1.

Sarma, S.S.S., Elguea-Sánchez, B., and Nandini, S., 2014. Effect of salinity on competition between the rotifers *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff and *Hexarthra jenkinae* (De Beauchamp) (Rotifera). Hydrobiologia, 474 (1-3): 183–188. DOI: 10.1023/A:1016535821741

Snell, T.W., 1998. Estimating chronic toxicity using rotifers. In: Standard methods for the examination of water and wastewater. vol. 20 (8420), pp. 8-62-8-65.

Snell, T.W., and Hicks, D.G., 2011. Assessing toxicity of nanoparticles using *Brachionus manjavaca*s (Rotifera). Environmental Toxicology, 26(2):146-152. DOI:10.1002/tox.20538

Sunderland, C.J., Steiert, M., Talmadge, J.E., Derfus, A.M., and Barry, S. E., 2006. Targeted nanoparticles for detecting and treating cancer. Drug Development and Delivery, 67:70-93. DOI: 10.1002/ddr.20069

United Nation (UN). 2009. Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals (GHS), Third revised edition, United Nations, New York and Geneva, pp. 215-220.

United States Environmental Protection Agency (USEPA)., 1985. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. EPA/600/4-85/013, pp. 216.

Vadstein, O., Øie, G., and Olsen, Y., 1993. Particle size dependent feeding by the rotifer *Brachionus plicatilis*. Hydrobiologia, 255(1): 261-267. DOI: 10.1007/BF00025847

Zhang, Y.Q., Dringen, R., Petters, C., Rastedt, W., Koser, J., Filser, J., and Stolte, S., 2016. Toxicity of dimercaptosuccinate-coated and unfunctionalized magnetic iron oxide nanoparticles towards aquatic organisms. Environmental Science. Nano, 3: 754-767. DOI:10.1039/C5EN00222B

Zhu, S., Xue, MY., Luo, F., Chen, WC., Zhu B., Wang GX., 2017. Developmental toxicity of Fe_3O_4 nanoparticles on cysts and three larval stages of *Artemia salina*.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.3.5.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117175]

chain. *Chemosphere*, 79: 928-933. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2010.03.022

Zhu, X., Chang, Y., and Chen, Y., 2010b. Toxicity and bioaccumulation of TiO_2 nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 78: 209-215. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.11.013

Environmental Pollution. 230: 683-691. DOI:10.1016/j.envpol.2017.06.065

Zhu, X., Wang, J., Zhang, X., Chang, Y., and Chen, Y., 2010a. Trophic transfer of TiO_2 nanoparticles from *Daphnia* to zebrafish in a simplified freshwater food

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.3.5.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117175]

Evaluation of the toxicity of magnetite (Fe_3O_4) nanoparticle aqueous suspensions on bio-indices of sea water (barnacle) and fresh water (rotifer)

Mashjoor S.[1], Yousefzadi M.[1]*, Alishahi M.[2]

*morteza110110@gmail.com

1-Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
2-Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-16]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.3.5.3]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117175]

Abstract

Due to the inevitable achievement of nanoparticles to aquatic ecosystems, the limitation of existing reports, and the inadequate understanding of their possible biological reactions with aquatic organisms, this study in the pioneering step was aimed to toxicity assessment of aqueous suspension of chemical magnetic nanoparticles (Fe_3O_4) in zooplanktonic species such as barnacle larvae *Amphibalanus amphitrite* (sea water index) and rotifer *Brachionus rotundiformis* (fresh water index). For this purpose, serial concentrations (0, 10, 50, 100, 200, 500 mg / l) of magnetite nanoparticles were prepared in 24 well plates with 5 replicates. After that, the zooplanktons (50 barnacle nauplii and 20 neonate rotifer to each well) were introduced to plates and the sensitivity of the samples were evaluated for the toxicity of nanoparticles at a time interval of 12-48 hours. The results of this study showed that the toxicity effects of chemical magnetite nanoparticles on barnacle nauplii larvae and neonate rotifer were increased with increasing time and concentration of magnetite nanoparticles. Differences between control and treatment groups were significant ($P<0.05$). However, after 48 hours of exposure, the mortality rate at the highest concentration (500 mg/l) in barnacles was 62% (LC_{50}= 466.5 mg/l) and in rotifer 34% (E_{50}>1000 mg/l). Regardless of species variation in barnacles and rotifers, according to the results, magnetite nanoparticles are in the group of non-toxic contaminants for these zooplanktonic organisms.

Keywords: Toxicity, Biomarker, Zooplankton, Fe_3O_4 nanoparticles, Salinity

*Corresponding author