

## ارزیابی میزان جذب و رهایش نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم در ناپلی آرتمیای فرانسیسکانا در شوری‌های مختلف

مینا توانا<sup>۱</sup>، محمدرضا کلباسی<sup>۲\*</sup>، عبدالمحمد عابدیان کناری<sup>۳</sup>، سیدعلی جوهری<sup>۴</sup>

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، پست الکترونیکی: [tavana.tu.ac.ir@gmail.com](mailto:tavana.tu.ac.ir@gmail.com)
- ۲- استاد، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، پست الکترونیکی: [kalbassi\\_m@modares.ac.ir](mailto:kalbassi_m@modares.ac.ir)
- ۳- دانشیار، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، پست الکترونیکی: [aabedian@yahoo.co.uk](mailto:aabedian@yahoo.co.uk)
- ۴- استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، پست الکترونیکی: [sajohari@gmail.com](mailto:sajohari@gmail.com)

تاریخ پذیرش: ۹۳/۴/۲۱

\* نویسنده مسوول

تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۱۵

© نشریه علمی - پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۳، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

### چکیده

آرتمیای موجودی فیلترکننده است که بدون انتخاب، هر نوع ماده‌ای با اندازه یک تا ۵۰ میکرون را به بدن خود جذب می‌نماید. در این مطالعه توانایی آرتمیای فرانسیسکانا در جذب و رهایش نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم در شوری‌های متفاوت مورد بررسی قرار گرفت. بدین‌منظور ناپلی‌های آرتمیای به مدت ۱۲ ساعت در معرض نانوذرات نقره کلوییدی (غلظت ۳۲ میلی‌گرم در لیتر) و هم‌چنین ۴۸ ساعت در معرض نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) قرار گرفته و پس از جمع‌آوری و خشک شدن، میزان نانومواد جذب شده در آنها به وسیله دستگاه جذب اتمی سنجیده شد. هم‌چنین به‌منظور بررسی میزان رهایش نانومواد جذب شده در ناپلی‌ها، پس از قرار دادن آنها در تیمارهای مذکور، مجدداً به آب شیرین بازگردانده شده و در فواصل زمانی ۵، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه از آب شیرین نمونه‌برداری انجام و میزان رهایش نانومواد توسط دستگاه جذب اتمی سنجیده شد. هم‌چنین میزان رسوب نانوذرات در آب‌های با شوری‌های ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ گرم در لیتر توسط روش اسپکتروفوتومتری در زمان‌های ۲، ۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج جذب نانوذرات نقره و تیتانیوم در ناپلی‌ها نشان داد که میزان جذب تیتانیوم ( $68/16 \pm 38/18$ ) به صورت معنی‌داری بیش از نقره ( $2/13 \pm 1/79$ ) بوده است ( $P < 0/05$ ). هم‌چنین میزان رهایش نقره در مقایسه با تیتانیوم در ناپلی‌های بازگردانده شده به آب شیرین به‌صورت معنی‌داری بیشتر بوده است ( $P < 0/05$ ). در خصوص میزان رسوب نانوذرات در آب، نتایج اسپکتروفوتومتری در مدت زمان ۲۴ ساعت نشان داد که اگرچه در مورد نانوذرات نقره همراه با افزایش شوری آب، میزان رسوب افزایش یافته است، اما در مورد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، اگرچه تا شوری ۷۰ گرم بر لیتر، میزان انباشتگی و کلوخه شدن ذرات در محلول بیشتر می‌شود؛ در حالی‌که رسوب ذرات در شوری ۱۰۵ و ۱۴۰ گرم در لیتر به حداکثر میزان خود رسید. جمع‌بندی این تحقیق مویده آن است

که در صورت حضور نانوذرات نقره و یا دی اکسید تیتانیوم در زیستگاه‌های طبیعی آرتیمیا و یا در آب محیط پرورش با شوری‌های متفاوت، بخشی از نانومواد مذکور در آب‌های شور ترسب شده و بخش باقیمانده توسط این موجود جذب خواهد گردید که می‌تواند به مصرف کنندگان بعدی که از آرتیمیا تغذیه می‌کنند منتقل گردد.

کلمات کلیدی: جذب و رهایش، نانوذرات نقره، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، آرتیمیا فرانسیسکانا، شوری.

## ۱. مقدمه

زیستی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در گونه‌ی آرتیمیا به عنوان مدل، گزارش نشده است.

آرتیمیا یا میگوی آب شور، از جمله آبزیانی است که به دلیل دارا بودن ارزش غذایی بالا، از دیرباز به‌عنوان غذای زنده در صنعت آبری پروری کاربرد داشته است. به کمک روش زیست‌غشایی<sup>۱</sup> می‌توان مقادیر مشخصی مواد غنی از اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره بلند را به شکل محلول‌های معلق یا اجزاء بسیار ریز به بدن متاناپلیوس آرتیمیا وارد کرد و به این شکل آرتیمیا را برای رفع نیازهای غذایی ماهی و یا میگو، بیش از پیش تقویت نمود. آرتیمیا فرانسیسکانا گونه‌ای یوری ترمال و یوری هالین است که در سراسر آمریکا در اقیانوس‌ها و در جاهایی که بسترهای نمکی نرم داشته باشند، یافت می‌شوند (Browne and Wanigasekera, 1999). علاوه بر این، یکی دیگر از کاربردهای این موجود زنده، در تعیین میزان سمیت مواد شیمیایی مختلف است (Kerster and Schaeffer, 1983; Nunes et al., 2006; Persoone and Wells, 1987). قابلیت استفاده از آرتیمیا در مطالعات سم‌شناسی می‌تواند به دلیل خصوصیات فیزیولوژیکی طبیعی این موجود، همچون قابلیت سازگاری با دامنه‌ی وسیع شوری (۵ تا ۲۵۰ گرم در لیتر) و درجه حرارت (۶ تا ۳۵ درجه)، چرخه زندگی کوتاه، قابلیت سازگاری بالا با شرایط محیطی نامطلوب، قدرت تکثیر بالا، استراتژی تکثیر پارتنوژنتیک و دو جنسی (با تولید ناپلی یا سیست)، اندازه بدن کوچک و قابلیت سازگاری با منابع تغذیه‌ای متنوع (به دلیل دارا بودن فیلتر فیدر غیرانتخابی<sup>۲</sup>) باشد (Nunes et al., 2005). با توجه به مطالب بیان شده و تولید و استفاده روز افزون نانو مواد و ورود آن‌ها به محیط زیست آبی و در نظر گرفتن این که آرتیمیا به‌عنوان یک موجود فیلترکننده غیرانتخابی قادر است هر گونه ماده‌ای را بدون انتخاب به بدن خود جذب نماید، هدف از این بررسی ارزیابی توانایی جذب و رهایش نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم توسط این موجود در شوری‌های مختلف آب بود.

نانومواد حداقل در یکی از ابعاد اندازه‌ای بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر دارند. نانوفن‌آوری توانمندی تولید مواد، ابزارها و سامانه‌های جدید با در دست گرفتن کنترل در سطح مولکولی و اتمی و استفاده از خواص آن‌ها در مقیاس نانو است (Riediker, Schmid and 2008). امروزه نانومواد در حوزه‌های مختلف علوم زیستی (مثل بیوسنسورها)، پزشکی و دارویی (مانند سامانه تحویل و رساندن دارو به بافت هدف)، زیست‌محیطی، تولید انرژی و حتی زندگی روزمره (مثل لوازم آرایشی)، کاربردهای فراوانی دارند (Perugini et al., 2002; Prow et al., 2002; Jin, 2006; Ye, 2007). از میان نانومواد گوناگون، نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و نانو ذرات نقره به‌طور گسترده‌تری مورد استفاده قرار می‌گیرند و استفاده از آن‌ها در صنعت و زندگی روزمره با سرعت بسیار زیادی در حال گسترش است (Adams et al., 2006). آمار تولیدات جهانی مویید آن است که سالانه ۳۰۰۰ تن نانو ذرات دی‌اکسیدتیتانیوم و ۵۵ تن نانو ذرات نقره تولید می‌گردد (Piccinno et al., 2012). از سوی دیگر مقدار پیش‌بینی شده حضور نانوذرات نقره و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در محیط زیست آبی، به‌ترتیب برابر ۰/۳ تا ۰/۳۲ و ۰/۷ تا ۱۶ میکروگرم در لیتر برآورد گردیده است (Batley et al., 2013). یون نقره که سمی‌ترین شکل نقره در محیط آبی قلمداد می‌گردد (Ratte et al., 1999)، تمایل زیادی به تجمع زیستی در بدن موجودات زنده دارد، همچنین در تبادلات غشای سلولی و تنظیمات یونی همانند یون‌های  $Na^+$  و  $Cu^+$  توانایی وارد شدن به درون سلول از طریق غشای سلولی را دارند (Luoma, 2008). به‌علاوه عوامل متعددی مانند سختی آب، pH، قلیائیت، شوری و کربن آلی محلول مانع دسترسی زیستی شکل‌های مختلف نقره در محیط آبی می‌شوند که در این میان شوری مهم‌ترین نقش را در کاهش سمیت و دسترسی زیستی نقره در محیط آبی دارد (Nichols et al., 2006; Webb and Wood, 2000). تا کنون تحقیقی در خصوص اثر شوری بر کاهش سمیت و دسترسی

<sup>1</sup> Bio encapsulation

<sup>2</sup> Nonselective filterfeeder

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲-۲. کشت آرتمیا

در پژوهش حاضر از گونه آرتمیا فرانسسکانا (A.H.T brand، ایالات متحده آمریکا) برای مطالعات سم‌شناسی استفاده گردید. ظروف ویس یک لیتری با ته مخروطی شکل که از کف هواده می‌شدند، به‌عنوان محلی برای تخم‌گذاری سیستم‌های آرتمیا استفاده گردید. نور مورد نیاز برای تخم‌گذاری سامانه‌ها (۱۸۰۰ لوکس) از طریق لامپ فلورسنت و دمای مورد نیاز (۳۰ درجه سانتیگراد) از طریق غوطه‌ورسازی ویس‌ها در حمام آبی مجهز به بخاری برقی تأمین می‌گردید. آب شور مورد نیاز برای کشت آرتمیا با اضافه کردن ۳۵ گرم نمک حاصل از دریاچه ارومیه در یک لیتر آب مقطر آماده گردید و برای تنظیم pH و رساندن آن به ۸، از مقدار کافی بی‌کربنات سدیم (NaHCO<sub>3</sub>) استفاده شد. سختی آب محیط کشت حاصله توسط دستگاه فتومتر به میزان ۱۴۵ میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم محاسبه گردید.

### ۲-۳. روش مواجهه آرتمیا با نانوذرات مورد مطالعه

پس از آماده نمودن محلول‌های مورد نظر، مواجهه آرتمیا با نانوذرات در ویس‌های یک لیتری شیشه‌ای (سه تکرار برای هر تیمار) صورت پذیرفت. ابتدا به هر لیتر محیط کشت، ۳ گرم سیستم آرتمیا اضافه گردید و ۲۴ ساعت پس از برقراری شرایط کشت ناپلی‌ها از تخم خارج شدند. مطابق با راهنمای OECD در تعیین غلظت‌ها برای تست‌های شیمیایی و با در نظر گرفتن سمیت بیشتر نانوذرات نقره نسبت به نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰، ۳۲ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای نانوذرات نقره و غلظت‌های ۱۰، ۳۲ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در نظر گرفته شد. بر اساس این پیش‌تست‌های اولیه، میانگین درصد بازماندگی ناپلی‌ها در هر غلظت محاسبه و در نتیجه غلظت‌های ۳۲ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌عنوان تیمارهایی که کمترین میزان کشندگی را به‌همراه داشت، به‌ترتیب برای مواجهه ناپلی آرتمیا با نانوذرات نقره و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در نظر گرفته شدند. در این مرحله ناپلی‌های تازه از تخم خارج شده به بشرهای یک لیتری حاوی غلظت‌های ۳۲ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره و یا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم منتقل شدند. دمای آب در بشرهای مذکور در طول مدت انجام آزمایش در ۲۲ درجه

### ۲-۱. نانومواد مورد استفاده و آماده‌سازی آن‌ها

کلوئید نانوذرات نقره<sup>۱</sup> مورد استفاده در این پژوهش با نام تجاری Nanocid از شرکت نانو نصب پارس (تهران-ایران) و نانوذرات پودری دی‌اکسید تیتانیوم فرم آناز محصول Us-nano آمریکا از شرکت نانوپارس لیما از دو شرکت (تهران-ایران) خریداری شد. پیش از شروع آزمایشات سم‌شناسی، به‌منظور تعیین شکل هندسی و اندازه هر یک از نانومواد مورد استفاده، تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری توسط دستگاه TEM مدل H-۷۱۰۰۰ (Hitachi، ژاپن) تهیه گردید. به‌منظور محاسبه میانگین اندازه هر یک از نانوذرات نقره و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، از روی تصاویری که با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰۰۰ برابر تهیه شده بودند، تعداد ۷۰۰ ذره به‌صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از نرم افزار پردازش تصاویر دیجیتالی Axio Vision (نسخه ۴، ۸، ۲، ۰ mbh Carl Ziess Micro Imaging، آلمان) اندازه‌گیری شدند.

به‌منظور آماده کردن محلول کاری کلوئید نانوذرات نقره با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، بعد از رقیق نمودن کلوئید اولیه (غلظت ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در آب مقطر دو بار تقطیر، سوسپانسیون حاصله به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار داده شد. همچنین به‌منظور تبدیل پودر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به سوسپانسیون با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، ابتدا به ۰/۳ گرم از این پودر قطره آب دیونیزه اضافه گردید و توسط کاردک هم زده شد تا به حالت یک خمیر غلیظ درآمد. اضافه کردن تدریجی آب مقطر و هم زدن با کاردک تا آنجا ادامه یافت که در مدت زمانی حدود ۴۰ دقیقه، حجم مخلوط حاصله به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسید. در مرحله بعد ابتدا مخلوط حاصله به‌مدت ۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار داده شده و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه توسط دستگاه سونیکاتور میله‌ای<sup>۲</sup> با دامنه نوسان ۷۰، مقدار ۲۳۰۰۰ ژول انرژی به آن وارد گردید. در نهایت سوسپانسیون یکنواخت و شیری رنگی که حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بود به‌دست آمد. به‌دلیل حساسیت نوری، این سوسپانسیون در محلی تاریک قرار داده شد (Jiang et al., 2008; OECD, 2010).

<sup>۱</sup> Colloidal Silver Nanoparticles

<sup>۲</sup> Probe

۵-۲. بررسی میزان رسوب و انباشتگی نانوذرات نقره و دی‌اکسید تیتانیوم در آب

به‌منظور سنجش میزان انباشتگی یا کلوخه شدن نانوذرات مورد مطالعه در ستون آب در شوری‌های متفاوت (۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ گرم در لیتر) غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰، ۳۲ و ۱۰۰ میلی‌گرم از نانوذرات نقره و دی‌اکسید تیتانیوم در ویس‌های شیشه‌ای یک لیتری تهیه گردید و نمونه‌برداری از آب در زمان‌های ۲، ۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انجام شد و میزان انباشتگی نانوذرات در آب از روش اسپکتروفوتومتری، (دستگاه اسپکتروفوتومتر<sup>۲</sup> مدل Perkin Elmer lambda 25) مورد سنجش قرار گرفت. طول موج مورد استفاده برای نمونه‌های نانوذرات نقره ۳۵۰-۵۵۰ نانومتر و برای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۴۵۰-۲۵۰ نانومتر بود (Zook et al., 2011).

۶-۲. تجزیه و تحلیل آماری

بانک اطلاعاتی داده‌های مذکور در نرم افزار Excel 2007 تهیه شد. با توجه به بررسی هر متغیر مورد نظر به‌صورت جداگانه و وارد نمودن داده‌ها به‌صورت مرحله‌ای، نرمالیتی داده‌های حاصل از این تحقیق با آزمون کولموگروف اسمیرنوف و آزمون شاپیرو-ویلک پردازش گردید. پردازش نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۳ صورت گرفت. به‌منظور مقایسه جذب نانوذرات نقره و دی‌اکسید تیتانیوم با گروه شاهد و با یکدیگر در بدن آرتیمیا از آزمون آماری T غیرجفتی یا Independent Samples T-Test، استفاده شد.

### ۳. نتایج

۳-۱. ویژگی‌های نانومواد مورد استفاده

بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری، شکل نانوذرات نقره استفاده شده در این پژوهش کروی است (شکل ۱). بزرگ‌ترین ذره در تصاویر، قطری برابر با ۱۲۹ نانومتر داشت و از سوی دیگر تنها ۲/۲۸ درصد از ذرات بزرگتر از ۱۰۰ نانومتر

سانتیگراد حفظ گردید و هوادهی ملایم و نوردهی نیز انجام شد. در این شرایط ناپلی‌ها به‌مدت ۱۲ ساعت در مواجهه با نانوذرات نقره و ۴۸ ساعت در مواجهه با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم قرار گرفته، سپس نمونه‌ها جمع‌آوری و بخشی از آن‌ها جهت سنجش میزان جذب نانومواد مورد تحقیق ابتدا در دمای ۲۰- درجه منجمد و سپس توسط دستگاه فریز درایر به‌مدت ۲۴ ساعت خشک و به پودر تبدیل شدند. بخش دیگر نمونه‌ها نیز جهت سنجش میزان رهایش مورد استفاده قرار گرفتند.

۴-۲. سنجش میزان جذب و رهایش نانوذرات نقره و دی‌اکسید تیتانیوم

به‌منظور سنجش میزان جذب، ابتدا از هر نمونه مقدار ۰/۱۲ گرم وزن خشک نمونه برداشته و درون لوله‌های PTFE<sup>۱</sup> ریخته و جهت هضم نمونه‌ها به هر لوله ۲ سی‌سی اسید نیتریک ۶۹٪ اضافه و به‌مدت یک ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد و سپس به‌مدت ۳ ساعت در دمای ۱۴۰ درجه سانتیگراد در دستگاه دایجستر عمل هضم ادامه یافت.

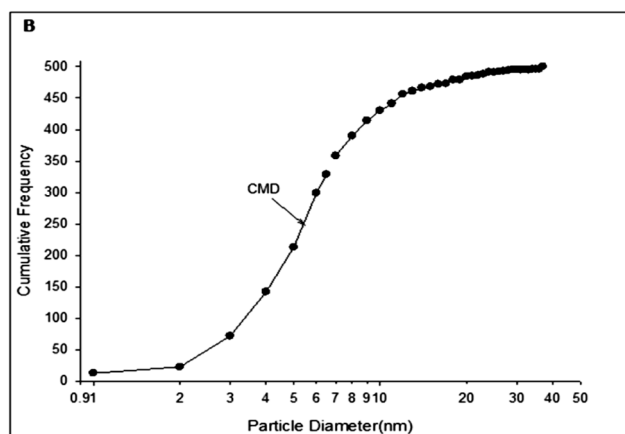
پس از سرد شدن و خارج شدن بخارات اسیدی از نمونه‌ها، محلول حاصله توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ فیلتر گردید و رسوبات فیلتر شده توسط آب دیونیزه جمع‌آوری و محلول مذکور در ظروف پلی‌اتیلن نگهداری شدند. غلظت نانوذرات مذکور توسط دستگاه جذب اتمی مجهز به کوره گرافیتی perkin elmer مدل ۴۱۰۰، بررسی و نتایج بر حسب میلی‌گرم در لیتر بیان شد (Yap et al., 2006).

به‌منظور سنجش میزان رهایش نانوذرات مورد بررسی، ابتدا ناپلی‌های جمع‌آوری شده (پس از تیمارهای مواجهه سازی در مرحله‌ی قبل)، به بشرهای یک لیتری حاوی آب شیرین منتقل شده و در فواصل زمانی ۵، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه نمونه‌برداری از آب شیرین صورت گرفت. نمونه‌های آب جمع‌آوری شده توسط اسید نیتریک ۶۹٪ به‌مدت یک ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد و سپس سه ساعت در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد و در نهایت ۳ ساعت در دمای ۱۴۰ سانتیگراد هضم گردیدند (Yap et al., 2006).

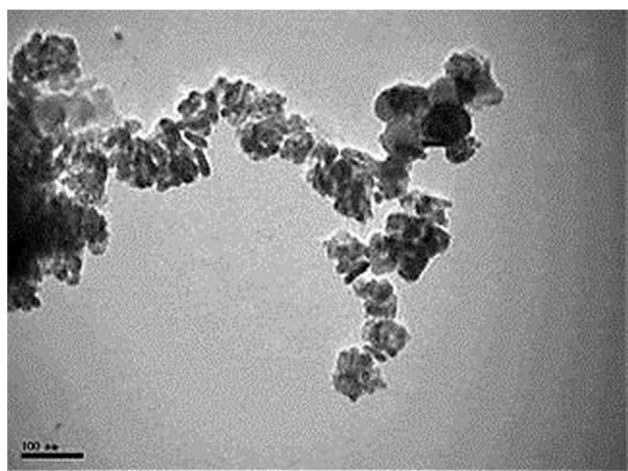
<sup>2</sup> UV-Vis spectrophotometer

<sup>1</sup> polytetrafluoroethylene

مقادیر میانه فراوانی تجمعی قطر ذرات، میانگین قطر هندسی و انحراف معیار هندسی قطر ذرات به ترتیب برابر ۱۳/۹۰ نانومتر، ۱۷/۵۰ نانومتر و ۱/۷۱ محاسبه گردید. بر اساس تصاویر TEM حاصل از سوسپانسیون نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، این نانوذرات در محیط آبی تشکیل دسته‌های بزرگ و کلوخه‌ای داده بودند. ۲۸/۴۷ درصد این دسته‌ها بین ۱۵ تا ۱۰۰ نانومتر، ۵۲/۵۵ درصد آن‌ها بین ۱۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر و ۱۸/۹۸ درصد بالای ۵۰۰ نانومتر قطر داشتند (شکل‌های ۶ و ۷).



شکل ۳: فراوانی تجمعی توزیع اندازه ذرات نقره موجود در کلونید نانوقره، بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری، (CDM: میانه فراوانی تجمعی قطر)

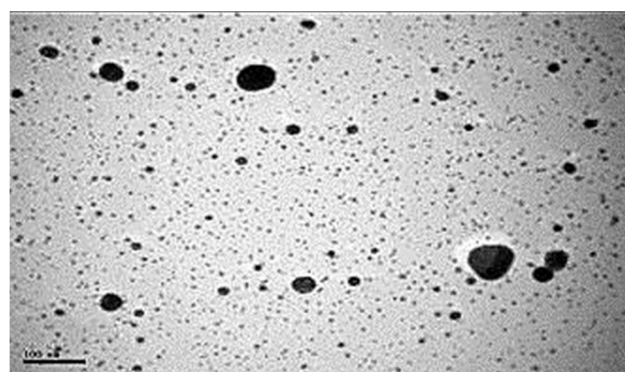


شکل ۴: تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری پودر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم

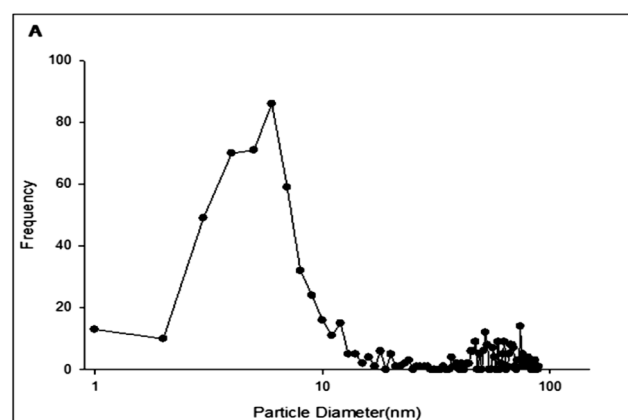
### ۳-۲. قابلیت جذب نانوذرات نقره و دی‌اکسید تیتانیوم در ناپلی آرتیمیا فرانسیسکانا

نتایج نشان داد که پس از ۱۲ ساعت مواجهه ناپلی‌های آرتیمیا با نانوذرات نقره، مقدار نقره تجمع یافته در بدن آن‌ها

بودند. ۶۵/۱۴ درصد ذرات قطری بین ۱ تا ۱۳ نانومتر تخمین زده شد و میانه فراوانی تجمعی قطر ذرات (CMD)<sup>۱</sup> برابر ۶/۴۷ نانومتر بود (شکل ۲ و ۳). میانگین قطر هندسی (GMD)<sup>۲</sup> و انحراف معیار هندسی (GSD)<sup>۳</sup> قطر ذرات به ترتیب برابر ۱۲/۶۵ و ۱/۴۶ نانومتر تعیین شد. از سوی دیگر میانگین حسابی قطر ذرات، بر اساس نتایج میکروسکوپ الکترونی عبوری، ۱/۱۴-±۲/۵۴ نانومتر بود.



شکل ۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری مربوط به کلونید ۴۰۰۰ میلی-گرم در لیتر نانوذرات نقره



شکل ۲: فراوانی توزیع اندازه ذرات نقره در کلونید، بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری

بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مورد استفاده، به نظر سوزنی شکل یا هرمی شکل بودند (شکل‌های ۴ و ۵) و ۸۶/۲۳ درصد آن‌ها قطری بین ۵ و ۳۰ نانومتر و ۵/۰۷ درصد آن‌ها قطری بیش از ۵۰ نانومتر داشتند و بیشترین قطر ذره اندازه‌گیری شده ۸۱ نانومتر بود.

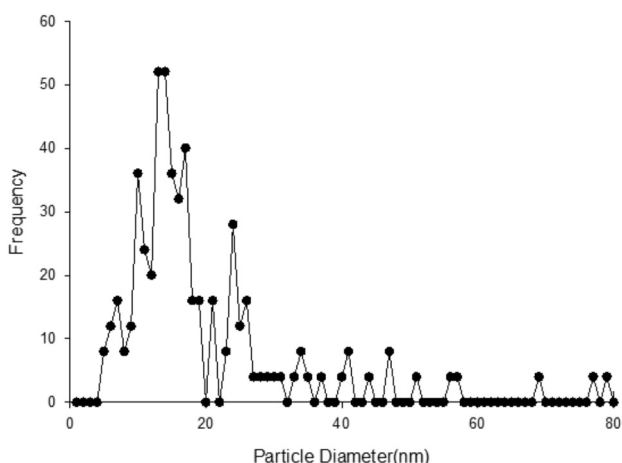
<sup>۱</sup> Count Median Diameter

<sup>۲</sup> Geometric Mean Diameter

<sup>۳</sup> Geometric Standard Deviation

جدول ۱: مقایسه‌ی میزان جذب نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم در ناپلی آرتیمیا فرانسیسکانا

ماده	مدت زمان مواجهه	غلظت ماده در آب (mg/l)	میانگین جذب ماده در بدن ناپلی (mg/l)
نانوذرات نقره	۱۲ ساعت	۳۲	۲/۱۳±۱/۷۹a
گروه شاهد (فاقد نانوذرات نقره)	۱۲ ساعت	۰	۱/۱۶±۰/۲۵a
نانوذرات دی اکسید تیتانیوم	۴۸ ساعت	۱۰۰	۶۸/۱۶±۳۸/۱۱b
گروه شاهد (فاقد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم)	۴۸ ساعت	۰	۱/۳±۰/۹۵c



شکل ۷: فراوانی توزیع اندازه ذرات دی اکسید تیتانیوم بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری

### ۳-۳. قابلیت زدایش نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم از ناپلی آرتیمیا فرانسیسکانا

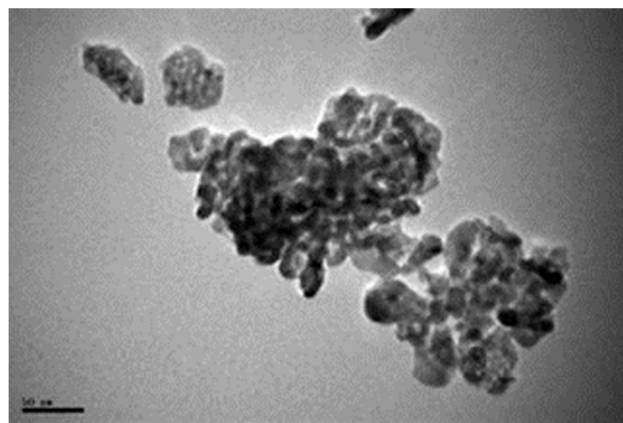
در بررسی داده‌های مربوط به نمونه‌هایی که در آب شور در معرض تیمارهای نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم قرار گرفته و سپس به آب شیرین بازگردانده شدند، در فاصله‌های زمانی ۵، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه، مشخص گردید که میزان رهایش نقره از ناپلی‌های در معرض نانوذرات نقره (با غلظت ۳۲ میلی‌گرم در لیتر و در مدت زمان ۱۲ ساعت)، به‌طور معنی‌داری بیشتر از میزان رهایش تیتانیوم از ناپلی‌های در معرض نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و در مدت زمان ۴۸ ساعت) بوده است ( $P < 0.05$ ) (جدول ۲).

### ۳-۴. بررسی میزان رسوب و انباشتگی نانوذرات نقره در آب‌های با شوری‌های مختلف

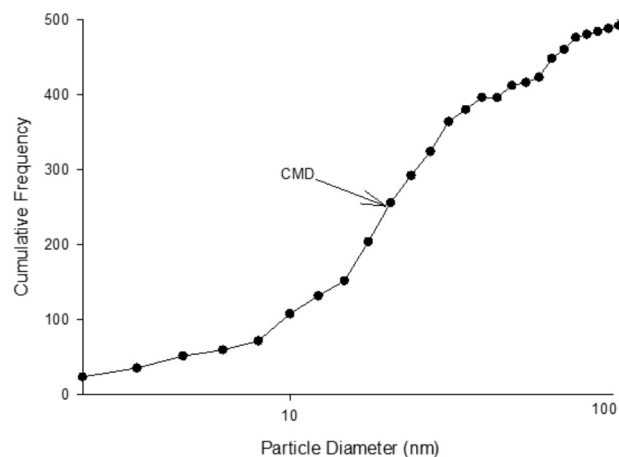
طی ۲۴ ساعت بررسی اندازه نانوذرات نقره (۳۲ میلی‌گرم در لیتر) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، حداکثر

نسبت به مقدار نقره موجود در ناپلی‌های گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشته است. در مقابل، ۴۸ ساعت مواجهه ناپلی‌های آرتیمیا با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم باعث افزایش معنی‌دار تجمع تیتانیوم در بدن آن‌ها نسبت به ناپلی‌ها گروه شاهد گردیده است. مقایسه ناپلی‌های در معرض نانوذرات نقره با ناپلی‌های در معرض نانوذرات دی اکسید تیتانیوم نیز نشان داد که صرف‌نظر از مدت زمانی مواجهه، مقدار تیتانیوم تجمع یافته در بدن ناپلی‌ها به مراتب بیشتر از مقدار نقره تجمع یافته در بدن آن‌ها است (جدول ۱).

همچنین مقایسه گروه‌های در معرض نانوذرات نقره و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم نشان داد که میزان جذب تیتانیوم به صورت معنی‌داری در مقایسه با نقره در بدن ناپلی‌ها بیشتر بوده است (جدول ۱).



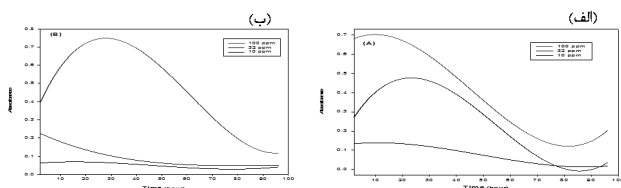
شکل ۵: تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از سوسپانسیون نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر



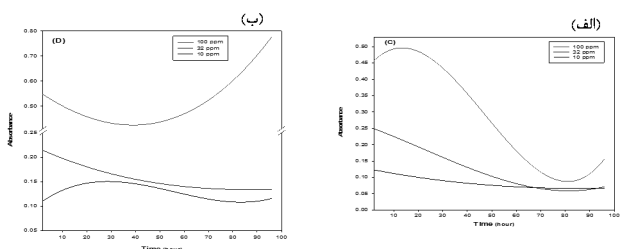
شکل ۶: فراوانی تجمعی توزیع اندازه ذرات دی اکسید تیتانیوم بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری، (CDM: میانه فراوانی تجمعی قطر)

۳-۵. نتایج بررسی میزان رسوب و انباشتگی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در آب‌های با شوری‌های مختلف

با افزایش شوری از ۳۵ به ۱۴۰ گرم بر لیتر، حداکثر میزان جذب نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، در زمان‌های ۲ تا ۹۶ ساعت، از ۴۵۰ به ۲۵۰ نانومتر کاهش یافته است (نمودار ۳ و ۴) (جدول ۴).



نمودار ۳: نتایج بررسی میزان رسوب و انباشتگی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در شوری‌های (الف) ۳۵ گرم در لیتر (ب) ۱۴۰ گرم در لیتر



نمودار ۴: نتایج بررسی میزان رسوب و انباشتگی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در شوری‌های (الف) ۱۰۵ گرم در لیتر (ب) ۱۴۰ گرم در لیتر

جدول ۴: نتایج اسپکتروفتومتری میزان جذب نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در شوری‌های مختلف (غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) (واحد جذب بر حسب نانومتر است).

شوری	۲۵	۷۰	۱۰۵	۱۴۰	زمان (ساعت)
۲	۴۵۰	۴۵۰	۴۵۰	۲۵۰	۲۵۰
۶	۴۵۰	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰
۲۴	۴۵۰	۴۵۰	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰
۴۸	۲۵۰	۲۲۵	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰
۷۲	۲۶۵	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰
۹۶	۴۵۰	۴۵۰	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰

#### ۴. بحث و نتیجه‌گیری

۴-۱. قابلیت جذب نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم در ناپلی آرتمیا فرانسیسکانا

سنجش تجمع زیستی نانومواد فرآیندی مهم در ارزیابی خطرات حاصل از آن‌ها است. تجمع زیستی مواد آلاینده در بدن

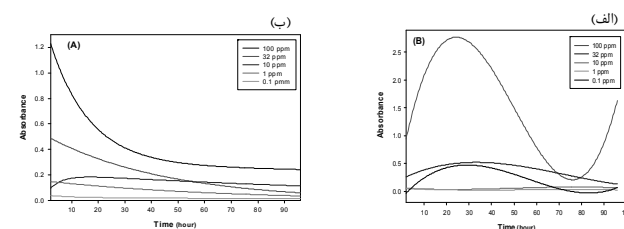
جذب<sup>۱</sup> نانوذرات نقره با افزایش شوری آب کاهش یافت. اما در فاصله‌ی زمانی ۴۸ تا ۹۶ ساعت، با افزایش شوری از ۳۵ به ۷۰ گرم بر لیتر، حداکثر جذب به شدت افزایش یافت (۳۵۰ به ۴۳۰ نانومتر). با ادامه‌ی روند افزایش شوری از ۷۰ به ۱۴۰ گرم بر لیتر، حداکثر میزان جذب از ۴۳۰ به ۴۱۰ نانومتر کاهش یافت (نمودارهای ۱ و ۲) (جدول ۳).

جدول ۲: مقایسه‌ی میزان رهایش یون‌های نقره و دی اکسید تیتانیوم به آب شیرین پس از در معرض قرار گرفتن ناپلی‌های آرتمیا فرانسیسکانا توسط نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم

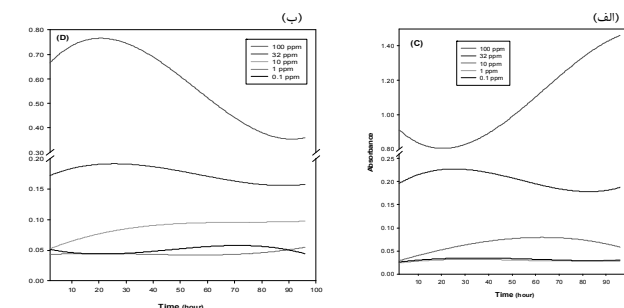
نوع ماده	زمان (دقیقه)	۵	۱۵	۳۰	۶۰
دی اکسید تیتانیوم (میلی گرم بر لیتر)		۰/۰۱۸	۰/۰۱۴	۰/۰۲	<۰/۰۱
نقره (میلی گرم بر لیتر)		۰/۰۳۷	۰/۰۴۷	۰/۰۲۶	۰/۰۴۶

جدول ۳: نتایج اسپکتروفتومتری میزان جذب نانوذرات نقره در شوری‌های مختلف (غلظت ۳۲ میلی گرم در لیتر) (واحد جذب بر حسب نانومتر است).

شوری (گرم بر لیتر)	۲۵	۷۰	۱۰۵	۱۴۰	زمان (ساعت)
۲	۴۴۰	۴۲۵	۴۱۵	۴۱۰	۲
۶	۴۷۰	۴۳۰	۴۱۵	۴۱۰	۶
۲۴	۴۹۰	۴۳۰	۴۱۵	۴۱۰	۲۴
۴۸	۳۵۰	۴۲۰	۴۱۵	۴۱۰	۴۸
۷۲	۳۵۰	۴۲۰	۴۱۵	۴۱۰	۷۲
۹۶	۳۵۰	۴۲۰	۴۱۵	۴۱۰	۹۶



نمودار ۱: نتایج میزان رسوب و انباشتگی نانوذرات نقره در شوری‌های (الف) ۳۵ گرم در لیتر (ب) ۷۰ گرم در لیتر



نمودار ۲: نتایج بررسی میزان رسوب و انباشتگی نانوذرات نقره در شوری‌های (الف) ۱۰۵ گرم در لیتر (ب) ۱۴۰ گرم در لیتر

<sup>۱</sup> λmax

نانوذرات قرار گرفت؛ با توجه به نتایج این مطالعه، به نظر می‌رسد که نانوذرات نقره در این غلظت و این زمان هنوز تجمع زیستی زیادی نیافته‌اند و به همین دلیل است که ناپلی‌ها تا ۱۲ ساعت اول در مقابل نقره، بازماندگی قابل توجهی داشتند. اما با افزایش زمان و یا افزایش غلظت نانوذرات نقره، به محض وقوع پدیده تجمع زیستی و جذب شدن این فلز به بدن موجود، افزایش جدی تلفات مشاهده گردید. در مطالعه Wang و Zhao (۲۰۱۰) نیز با افزایش غلظت نانوذرات نقره از ۰/۱ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، کاهش شدید بازماندگی مشاهده شده است.

در این پژوهش، درحالی‌که تمام ناپلی‌ها در مواجهه با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره طی ۲۴ ساعت تلف شدند، اما در مورد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، هیچگونه تلفاتی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و طی ۴۸ ساعت مواجهه مشاهده نگردید که نشان‌دهنده سمیت بیشتر نانوذرات نقره در مقایسه با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم برای ناپلی آرتیمیا است. این در حالی است که تیتانیوم تجمع زیستی بسیار بالایی نسبت به نقره در بدن ناپلی‌ها داشته است.

مهم‌ترین علت بالا بودن تجمع زیستی تیتانیوم، به خاطر بلعیده شدن نانوذرات تیتانیوم توسط ناپلی آرتیمیا بوده است که این نتایج با تحقیقات Ates و همکاران (۲۰۱۲)، مطابقت دارد. آنان در تحقیقات خود دریافتند که حتی غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم نیز در کوتاه مدت باعث ایجاد تلفات در آرتیمیا سالینا نمی‌شود. در عین حال این محققان، علت عدم سمیت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر روی این گونه را تشکیل کلوخه‌های ۲ میکرومتری در آزمایشات خود بیان نموده‌اند. آنها در این تحقیق، بیان داشته‌اند که چون در غلظت‌های بالاتر از ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، جذب تقریباً ثابت باقی مانده، ناپلی‌های آرتیمیا سالینا، قادر به دفع تمام نانوذرات تجمعی از بدن خود نیستند. بنابراین ناپلی‌های آرتیمیا سالینا، می‌توانند مقدار قابل توجهی از نانوذرات را وارد زنجیره‌ی غذایی دریایی کنند. این محققان هم‌چنین در نتایج خود اظهار داشته‌اند که با وجود این‌که هیچ اثرات مضر از در معرض‌گذاری کوتاه‌مدت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مشاهده نشده‌اند، اما باز هم سطح جذب قابل توجهی از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در بدن آرتیمیا مشاهده نموده‌اند.

موجودات زنده از راه بلعیدن آب یا غذای موجود در محیط آلوده در طول زمان، صورت می‌گیرد (Luoma and Rainbow, 2005). شماری از مقالات تجمع زیستی فلزات از طریق آب و غذا را بر اساس غلظت‌های واقعی موجود در طبیعت به صورت کمی بررسی نموده‌اند (Luoma and Fisher, 1997; Wang et al., 1996). مطالعاتی نیز در زمینه تجمع زیستی نانوذرات در بدن موجودات زنده از طریق غذا انجام شده است (Croteau et al., 2010; Dybowska et al., 2011). یکی از اساسی‌ترین سوالات در مورد تجمع زیستی نانومواد این است که آیا این مواد می‌توانند به داخل بدن موجودات زنده راه یابند و یا با وجود باقی ماندن در محیط، می‌توانند باعث آسیب به موجود زنده بشوند؟ نانوذرات تمایل زیادی به کاهش بار سطحی و انباشتگی در محیط دارند و این احتمال وجود دارد که به ذرات طبیعی چسبیده و توسط موجود بلعیده شده و به زنجیره غذایی راه یابند (Zhao and Wang, 2010). آرتیمیا با فیلتر کردن حجم زیادی آب، از طریق خارها و چنگالک‌ها، که بر روی ضمام بدن وجود دارند، تغذیه می‌کنند. ناپلی‌ها، از طریق این ضمام قادرند باکتری‌های بزرگ‌تر، سلول‌های جلبکی و احتمالاً کلاسترها نانوذرات را جمع‌آوری کنند. انتقال نانوذرات نقره از راه خورده شدن توسط سخت‌پوستان و سپس عبور از راه اپی‌تلیوم روده توسط عمل اندوسیتوز هم امکان‌پذیر است (Baun et al., 2008). در صورت عدم وجود دیواره‌ی سلولی با قابلیت خاص نفوذپذیری، نانوذرات باعث آسیب به دیواره‌ی سلولی می‌شوند. نانوذرات نقره و کلوخه‌های حاصل از نانوذرات نقره در محیط، از روزه‌های دیواره‌ی سلولی کوچکتر بوده و توانایی ورود به دیواره‌ی سلولی و غشای پلاسمایی را دارند (Fabrega et al., 2010). به‌علاوه قابلیت دسترسی نانوذرات و در نتیجه تجمع زیستی آنها در بدن موجود زنده ارتباط زیادی با غلظت و زمان مواجهه با نانوذرات دارد (Luoma, 1983; Wang and Fisher, 1999).

اگر چه معمولاً در آزمون‌های سم شناسی سخت‌پوستان آبی، تجمع زیستی را پس از ۴۸ ساعت مورد سنجش قرار می‌دهند (Zhao and Wang, 2010)، اما از آن‌جا که در تحقیق حاضر بیشترین میزان بازماندگی ناپلی‌ها (در پیش‌تست اولیه) در غلظت ۳۲ میلی‌گرم نانوذرات نقره در لیتر در مدت زمان ۱۲ ساعت محاسبه گردید، این زمان مبنای سنجش تست سمیت برای این

<sup>1</sup> setae



Chinnapongse et al., 2011; Stebounova et al., 2011; Zook )  
(et al., 2011; Salari Joo et al., 2013

در مورد بررسی تاثیر افزایش زمان بر میزان رسوب و انباشتگی نانوذرات نقره (غلظت ۳۲ میلی‌گرم بر لیتر) و دی‌اکسید تیتانیوم (غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، در شوری ۳۵ گرم در لیتر با افزایش زمان از ۲۴ به ۴۸ ساعت نانوذرات نقره انباشته شده در محیط به حالت رسوب در می‌آیند، در شوری ۷۰ گرم در لیتر، در مورد نانوذرات نقره با افزایش زمان از ۴۸ به ۷۲ ساعت، نانوذرات از حالت انباشتگی محدود به فرم نانویی در محیط تبدیل شده و در مورد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با افزایش زمان حداکثر جذب بین ۲۵۰ تا ۴۵۰ نانومتر در نوسان است. در شوری ۱۰۵ و ۱۴۰ گرم در لیتر، در مورد نانوذرات نقره با افزایش زمان از ۲ تا ۹۶ ساعت، حداکثر جذب به ترتیب در ۴۱۵ و ۴۱۰ نانومتر کم‌تر از حداکثر جذب (۴۲۰ نانومتر) ثابت باقی مانده و نشانه‌ی اندک رسوب نانوذرات برای شوری ۱۰۵ گرم بر لیتر و افزایش رسوب برای شوری ۱۴۰ گرم بر لیتر است. در مورد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، در شوری ۱۰۵ گرم بر لیتر با افزایش زمان از ۲ به ۶ ساعت، حداکثر جذب از ۴۵۰ به ۲۵۰ نانومتر کاهش می‌یابد و نشانه‌ی رسوب کلوخه‌های تشکیل شده از محیط است. در شوری ۱۴۰ گرم کم‌تر بودن حداکثر جذب نانوذرات از مقدار پیش‌بینی شده (۳۲۰ نانومتر) بیان‌کننده‌ی این مطلب است که در مدت زمان کم‌تر از دو ساعت کلوخه‌های تشکیل شده خیلی سریع از ستون آب خارج شده و ته‌نشین شده اند و میزان الکترولیت‌هایی مثل کلر که بار نانوذره‌ی سوسپانسیون را خنثی کرده و باعث رسوب و از دسترس خارج شدن نقره می‌شده است، از زمان ۲ ساعت به بعد در محیط به شدت کاهش یافته است که با نتایج Jiang و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت داشت. آنان در این تحقیق نشان دادند که با افزایش غلظت یونی محلول، مثلاً در ۰/۱ مولار کلرید سدیم، نیروی جاذبه‌ی بین ذرات بر نیروی دافعه غلبه کرده و در نتیجه، محلول بی‌ثبات می‌شود و باعث ته‌نشینی و کلوخه‌ی بالایی در سوسپانسیون می‌شود. در حقیقت با افزایش قدرت یونی سوسپانسیون، واکنش بین سطح ذرات دی‌اکسید تیتانیوم با یون‌های سدیم و کلر افزایش یافته، لایه‌ی الکتریکی دوپل شده، متراکم خواهد شد و پتانسیل کاهش یافته، اندازه‌ی قطر هیدرودینامیکی ذرات افزایش می‌یابد. تحت این شرایط توده‌های بزرگ‌تری شکل می‌گیرد که در مدت زمان

۲-۴. قابلیت زدایش نانوذرات نقره و دی‌اکسید تیتانیوم از ناپلی آرتمیای فرانسیسکانا

نتایجی که از سنجش میزان رهائش فلزات نقره و دی‌اکسید تیتانیوم از بدن ناپلی‌های آرتمیای در آب شیرین به دست آمد، نشان داد که با وجود این‌که میزان جذب نقره از بدن ناپلی‌ها با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد، اما میزان رهائش نقره‌ی حاصل از همین ناپلی‌ها در آب شیرین در مدت زمان ۲ ساعت، به میزان معنی‌داری بیشتر از میزان رهائش تیتانیوم بوده است. این نتایج نشان می‌دهد احتمالاً میزان رهائش بسیار محدود و در حد قابل سنجش با دستگاه نبوده است. علی‌رغم جذب بالاتر نانوذرات تیتانیوم نسبت به نقره در بدن ناپلی‌ها، رهائش حاصل از تیتانیوم از بدن آرتمیای در آب شیرین تقریباً اندک و قابل چشم‌پوشی بوده است. این احتمال وجود دارد که رهائش بیشتر نقره به علت انتشار دائمی یون‌های نقره از نانوذرات نقره بوده باشد، در حالی‌که احتمالاً چسبندگی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به بدن آرتمیای نسبت به نقره بسیار قوی‌تر بوده و این امر مانع زدایش آن در مدت زمان مورد بررسی (دو ساعت) گردیده است. با توجه به اینکه موضوع رهائش نانوذرات مورد مطالعه از بدن آرتمیای به آب تاکنون گزارش نشده است، لذا درک حقیقی مکانیسم این عمل مستلزم انجام تحقیقات وسیع‌تری است.

۳-۴. بررسی میزان رسوب و انباشتگی نانوذرات نقره و دی‌اکسید تیتانیوم در آب‌های با شوری‌های مختلف

بررسی میزان رسوب و انباشتگی نانوذرات نقره و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مدت زمان ۲۴ ساعت نشان داد که با افزایش شوری از ۳۵ به ۱۴۰ گرم بر لیتر، نانوذرات انباشته شده در محیط به حالت رسوب در می‌آیند که با نتایج سالاری جو و همکاران (۲۰۱۳) در مورد نانوذرات نقره مطابقت دارد. آنان در تحقیقات خود نشان دادند که با افزایش شوری قدرت یونی محلول به شدت افزایش می‌یابد و با افزایش قدرت یونی، کلاسترهای قوی‌تری تشکیل شده و این کلاسترها به‌علت وزن مولکولی بالاتر رسوب نموده و از ستون آب خارج شده‌اند. همچنین در این خصوص گزارش شده است که با افزایش شوری اندازه تجمعات نانوذرات در محیط آبی، نسبت به شوری‌های پایین‌تر افزایش می‌یابد

- Ates, M.; Daniels, J.; Arslan, Z.; Farah, I.O., 2012. Effects of aqueous suspensions of titanium dioxide nano particles on *Artemia salina*: assessment of nano particle aggregation, accumulation, and toxicity. Environment Monitoring Assessment, DOI 10.1007/s 10661-012-2794-7.
- Batley, G.E.; Kirby, J.K.; McLaughlin, M.J., 2013. Fate and risks of nano materials in aquatic and terrestrial environments. Accounts of Chemical Research, 46: 854-862
- Baun, A.; Hartmann, N.B.; Grieger, K.; Kusk, K.O., 2008. Ecotoxicity of engineered nano particles to aquatic invertebrates: a brief review and recommendations for future toxicity testing. Ecotoxicology, 17: 387-395.
- Browne, R.A.; Wanigasekera, G., 1999. Combined effects of salinity and temperature on survival and reproduction of five species of *Artemia*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 244: 29-44.
- Burch, D.; Hartman, P.; Marenberg, A.; McVey, M.; Turley, A., 2010. External Review Draft Nanomaterial Case Study Nanoscale Silver in Disinfectant Spray. EPA/600/R-10/081, 1-32 pp.
- Chen, J.; Han, C.M.; Lin, X.W.; Tang, Z.J.; Su, S.J., 2006. Effect of silver nanoparticle dressing on second degree burn wound. Zhonghua Wai Ke Za Zhi, 44: 50-52.
- Cheng, D.; Yang, J.; Zhao, Y., 2004. Antibacterial materials of silver nanoparticles application in medical appliances and appliances for daily use. Chinese Medical equipment, 4: 26-32.
- Chinnapongse, S.L.; MacCuspie, R.I.; Hackley, V.A., 2011. Persistence of singly dispersed silver nanoparticles in natural freshwaters, synthetic seawater, and simulated estuarine waters.
- Clifford, J.N.; Palomares, E.; Nazeeruddin, M.K.; Thampi, R.; Gratzel, M., 2004. Co-sensitized nanocrystalline TiO<sub>2</sub> films. American Chemical Society, 126: 5670.
- Jiang et al., ( ) ته‌نشین می‌شوند از محلول خارج شده، (2009).
- لذا شاید بتوان اظهار نمود مقدار جذب بالای تیتانیوم در بدن ناپلی آرتمیا، موید آن است که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در محیط آب شور، پس از بلعیده شدن و جذب توسط آرتمیا، به دستگاه گوارش و یا اسکلت خارجی این جانور چسبیده و بدون ایجاد کشندگی در شوری‌های مختلف، قابلیت ماندگاری و حفظ شدن در بدن جاندار را داشته است.
- در جمع‌بندی نهایی می‌توان اظهار نمود که بررسی میزان جذب و رهایش نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم در شوری‌های مختلف نشان داد که میزان جذب تیتانیوم به صورت معنی‌داری بیش از نقره بوده است. هم‌چنین میزان رهایش یون نقره در مقایسه با یون تیتانیوم در ناپلی‌های بازگردانده شده به آب شیرین به صورت معنی‌داری بیشتر بوده است. در خصوص میزان رسوب و انباشتگی نانوذرات، نتایج تایید نمود که در مورد یون‌های نقره همراه با افزایش شوری آب، میزان رسوب افزایش یافته است. اما در مورد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، اگرچه تا شوری ۷۰ گرم بر لیتر، میزان انباشتگی و کلوخه شدن ذرات در فاز محلول بیشتر می‌شود اما رسوب ذرات در شوری ۱۰۵ و ۱۴۰ گرم در لیتر به حداکثر میزان خود رسید.
- با توجه با این‌که در آینده با پیشرفت فن‌آوری و علم پزشکی ورود نانوذرات مورد مطالعه به محیط زیست افزایش خواهد یافت، با انتشار کنترل نشده‌ی نانوذرات به عنوان محصولات فرعی یا ضایعات پزشکی، موجوداتی مانند آرتمیا که در مکان‌های مصبی و دریاچه‌های آب شور که در نزدیکی ورود فاضلاب‌های آلوده به نانوذرات زندگی می‌کنند، بخشی از نانومواد مذکور در آب‌های شور رسوب یافته و بخش باقیمانده توسط این موجود جذب خواهد گردید و می‌تواند به مصرف کنندگان بعدی که از آرتمیا تغذیه می‌کنند منتقل گردد.

## منابع

- Adams, L.K.; Lyon, D.Y.; Alvarez, P.J.J., 2006. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, and ZnO water suspensions. Water Research, 40(19): 3527-3532.

- Joo, H.S.; 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*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.07.003>.
- Kerster, H.W.; Schaeffer, D.J., 1983. Brine shrimp (*Artemia salina*) nauplii as a teratogen test system. *Ecotoxicology Environment Safety*, 7(3): 342-349.
- Lee, K.L.; Nallathamby, P.D.; Browning, L.M.; Osgood, C.J.; Xu, X.H.N., 2007. In vivo imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of zebrafish embryos. *ACS Nano*, 133-143 pp.
- Liu, H.H.; Cao, X.; Yang, Y.; Liu, M.G.; Wang, Y.F., 2006. Array-based nano-amplification technique was applied in detection of hepatitis E virus. *Biochemistry and Molecular Biology*, 39: 247-252.
- Luoma, S.N.; Fisher, N., 1997. Uncertainties in assessing contaminant exposure from sediments: bioavailability. In: Ingersoll TD, Bidinger G, editors. *Ecological Risk Assessments of Contaminated Sediments. C. Pensacola, FL.*: SETAC Press; 211-39 pp.
- Luoma, S.N.; Rainbow, P.S., 2005. Why is metal bioaccumulation so variable? Biodynamics as a unifying concept. *Environment Science Technology*; 39: 1921-31.
- Luoma, S.N., 2008. Silver nanotechnologies and the environment: old problems and new challenges? Washington DC: Woodrow Wilson International Center for Scholars or The PEW Charitable Trusts, *Science Total Environment*, 409: 2443-2450.
- Luoma, S.N., 1983. Bioavailability of trace metals to aquatic organisms-a review. *Science Total Environment*, 28: 1-22.
- Makarava, N.; Parfenov, A.; Baskakov, I.V., 2005. Water-soluble hybrid nanoclusters with extra bright and Cohen, M.S.; Stern, J.M.; Vanni, A.J.; Kelley, R.S.; Baumgart, E.; Field, D.; Libertino, J.A.; Summerhayes, I.C., 2007. In vitro analysis of a nanocrystalline silver-coated surgical mesh. *Surgical Infections*, 8: 397-403.
- Croteau, M.N.; Dybowska, A.D.; Luoma, S.N.; Valsami-Jones, E.A., 2010. Novel approach reveals that zinc oxide nanoparticles are bioavailable and toxic after dietary exposures. *Nanotoxicology*, 0(0): 1-12.
- Diebold, U., 2003. The surface science of titanium dioxide *Surf. Scientific Report*, 48: 53.
- Dybowska, A.D.; Croteau, M.N.; Misra, S.K.; Berhanu, D.; Luoma, S.N.; Christian, P., 2011. Synthesis of isotopically modified ZnO nanoparticles and their potential as nanotoxicity tracers. *Environmental Pollution*, 159(1): 266-73.
- Elechiguerra, J.L.; Burt, J.L.; Morones, J.R.; Gao, A.X.; Lara, H.H.; Yacaman, M.J., 2005. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *Nanotechnology*, 3: 6.
- Evanoff, J.D.; Chumanov, G., 2005. Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays. *Chemical Physics and Physical Chemistry*, 6: 1221-1231.
- Fabrega, J.; Luoma, S.N.; Tyler, C.H.R.; Galloway, T.S.; Lead, J.R., 2010. Silver nanoparticles: Behaviour and effects in the aquatic environment. *Environment International*, 37: 517-531.
- Gagné, F.; Gagnon, C.; Blaise, C.; Eullafroy, P., 2008. Aquatic nanotoxicology research perspectives. *Water Science and Technology*, Environment Canada, Montréal, Qc, 1-22 pp.
- Jiang, J.; Oberdorster G.; Biswas P., 2008. Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. *Nanoparticle Research*, 11: 77-89.
- Jin, S.; Ye, K., 2007. Nanoparticle - mediated drug delivery and gene therapy. *Biotechnology Progress*, 23: 32-41.

- Prow, T.; Grebe, R.; Merges, C.; Smith, J.; McLeod, S.; Leary, J.; Luty, G., 2006. Nanoparticle tethered biosensors for auto regulated gene therapy in hyperoxic endothelium. *Nanomedicine*, 2: 276.
- Ratte, H.T., 1999. Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: a review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18: 89-108.
- Schmid, K.; Riediker, M., 2008. Use of nanoparticles in Swiss industry a targeted survey. *Environmental Science & Technology*, 42: 2253-2256.
- Stebounova, L.V.; Guio, E.; Grassian, V.H., 2011. Silver nanoparticles in simulated biological media: a study of aggregation, sedimentation, and dissolution. *Journal of Nanoparticles Research*, 13: 233-238.
- Topoglidis, E.; Cass, A.E.G.; Gilardi, G.; Sadeghi, S.; Beaumont, N.; Durrant, J.R., 1998. Protein adsorption on nanocrystalline TiO<sub>2</sub> films: An immobilization strategy for bioanalytical devices. *Analytical Chemistry*, 70: 5111.
- Van Stappen, G., 1976. Introduction, biology and ecology of *Artemia*. *Live food culture book*, 79-136 PP.
- Velzeboer, I.; Hendriks, A.J.; Ragas, D.W., 2008. A discussion of silver as an antimicrobial agent: alleviating the confusion. *Ostomy Wound Management*, 52: 34-41.
- Wang, W.X.; Fisher, N.S.; Luoma, S.N., 1996. Kinetic determinations of trace element bioaccumulation in the mussel *Mytilus eduli*. *Marine Ecology Progress Series*, 140: 19-113.
- Wang, W.X.; Fisher, N.S., 1999. Assimilation efficiencies of chemical contaminants in aquatic invertebrates: a synthesis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18: 2034-45.
- Webb, N.A.; Wood, C.M., 2000. Bioaccumulation and distribution of silver in four marine teleosts and two marine elasmobranchs: influence of exposure duration, concentration, and salinity. *Aquatic Toxicology*, 49: 111-129.
- photostable emissions: a new tool for biological imaging. *Biophysic*, 89 P.
- Muangman, P.; Chuntrasakul, C.; Silthram, S.; Suvanchote, S.; Benjathanung, R.; Kittidacha, S.; Rueksomtawin, S., 2006. Comparison of efficacy of 1% silver sulfadiazine and Acticoat for treatment of partial-thickness burn wounds. *Medical Association of Thailand*, 89: 953-958.
- Nichols, J.W.; Brown, S.; Wood, C.M.; Walsh, P.J.; Playle, R.C., 2006. Influence of salinity and organic matter on silver accumulation in Gulf toadfish (*Opsanus beta*). *Aquatic Toxicology*, 78: 253-261.
- Nunes, B.S.; Carvalho, F.D.; Guilhermino, L.M.; Van Stappen, G., 2006. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environmental Pollution*, 144: 453-462.
- OECD WPMN., 2010: Protocol for nanoparticle dispersion. <http://www.olis.oecd.org/olis/2009doc.nsf/linkto/env-jm-mono%282009%2920>.
- O'Regan, B.; Gratzel, M., 1991. A low-cost, high-efficiency solar cell based on dye-sensitized colloidal TiO<sub>2</sub> films. *Nature*, 353: 737.
- Persoone, G.; Wells, P.G., 1987. *Artemia* in aquatic toxicology: A review. In: Sorgellos P., Bengtson D.A., Decler W., Jaspers E. (Eds.), *Artemia Research and its Applications. Morphology, Genetics, Strain Characterization, Toxicology*. vol. I. Universa Press, Wetteren, Belgium.
- Perugini, P.; Simeoni, S.; Scalia, S.; Genta, I.; Modena, T.; Conti, B.; Pavanetto, F., 2002. Effect of nano particle encapsulation on the photostability of the sunscreen agent, 2-ethylhexyl-p-methoxycinnamate. *International Journal of Pharmacology*, 246: 37-45.
- Piccinno, F.; Gottschalk, F.; Seeger, S.; Nowack, B., 2012. Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials for Europe and the world. *Journal of Nanoparticle Research*, 14: 1109-1120.

- Zhao, C.M.; Wang, W.X., 2010. Comparison of acute and chronic toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate to *Daphnimagna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 4: 885-892.
- Zook, J.M.; Long, S.E.; Cleveland, D.; Geronimo, C.L.A.; MacCuspie, R.I., 2011. Measuring silver nanoparticle dissolution in complex biological and environmental matrices using UV-visible absorbance. *Anal Bio Chemistry*, 401(6): 1993-2002.
- Yap, C.K.; Ismail, A.; Cheng, W.H.; Tan, S.G., 2006. Crystalline and tissue redistribution in *Perna viridis* as indicators of Cu and Pb bioavailabilities and contamination in coastal waters. *Ecotoxicology Environmental Safty*, 63: 413-423.
- Zhang, Y.; Sun, J.A., 2007. Study on the bio-safety for nano-silver as anti-bacterial materials. *Chinese Journal of Medical Instrument*, 31: 35-38.