

کارایی رشد ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) در مواجهه با نانو ذرات اکسید روی

چکیده

جذب نانو ذرات توسط موجودات آبزی (مانند ماهی) با نگرانی‌هایی در مورد عوارض جانبی احتمالی نانو ذرات (NPs) همراه بوده است. هدف این مطالعه بررسی مؤلفه‌های رشد ماهی آمور در مواجهه با نانو ذرات اکسید روی (ZnO-NPs) به مدت ۶۰ روز می‌باشد. این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۳ تکرار در سال ۱۳۹۴ انجام شد و بچه ماهیان آمور در یک سیستم جریان مداوم در معرض ۰ (شاهد)، ۰/۱، ۰/۳، ۰/۸ و ۲/۴ میلی‌گرم/لیتر ZnO-NPs قرار گرفتند. بچه ماهیان با میانگین وزنی ۲۰ گرم در بین ۱۵ تانک تقسیم شدند. در سطوح پایین نانو ذرات اکسید روی باعث بهبود رشد طولی و وزنی شدند. با افزایش میزان نانو ذرات اکسید روی فاکتورهای تغذیه‌ای شامل نرخ رشد ویژه، فاکتور وضعیت، ضریب تبدیل غذایی و نرخ کارایی پروتئین کاهش یافتند. مطالعات ما نشان داد که اندازه‌گیری فاکتورهای رشد می‌تواند به‌عنوان یک ابزار دقیق برای ارزیابی اثرات سمیت نانو ذرات در ماهی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: نانو ذرات، اکسید روی، ماهی آمور، مؤلفه‌های رشد.

غلامرضا حیدری کاهکش^۱

مژده چله‌مال‌دزفول نژاد^{۲*}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات، واحد اهواز،

دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۲. استادیار گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی،

اهواز، ایران

*مسئول مکاتبات:

m_chelemaal@yahoo.com

کد مقاله: ۱۳۹۶۰۲۰۳۶۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۲۴

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی

ارشد می‌باشد.

مقدمه

ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و اکسید روی در حد نانو (قطر بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر)، دارای خواصی مانند تضعیف‌کننده اشعه UV بوده و در مواد آرایشی مانند کرم‌های ضد آفتاب (Maier and Korting, 2005)، تصفیه فاضلاب (Chen *et al.*, 2004) و بازسازی محیط‌زیست (Aitken *et al.*, 2006) استفاده می‌شود. در حال حاضر به‌طور کلی اکسید روی به‌عنوان یک ماده امن توسط سازمان غذا و دارو (CFR182.899121) شناخته شده و در گذشته در شرایط آزمایشگاهی به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی در برابر پاتوژن‌های مواد غذایی و باکتری‌های عامل فساد مورد آزمایش قرار گرفته است (Espitia *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2008). انتشار مستقیم و غیرمستقیم این نانو ذرات به محیط آبی از طریق حمام کردن، پساب و فاضلاب (Daughton and Ternes, 1999; Handy and Shaw, 2007; Ternes *et al.*, 2004) و سایر فعالیت‌ها (Chen *et al.*, 2004; Nagaveni *et al.*, 2004) شانس در معرض قرار گرفتن انسان‌ها و اکوسیستم به این نانو مواد افزایش می‌یابد (Nowack and Bucheli, 2007). به‌طور کلی، سمیت نانو ذرات در اثر اندازه کوچک و سطح ویژه بالا آن‌ها است (Lovern and Klaper, 2006). به لحاظ نظری انتظار می‌رود نانو مواد از هم‌تایان فلزی خود به علت واکنش‌پذیری و سطح تماس بیشتر و توانایی در نفوذ به مواد، از تجمع در سلول‌ها و موجودات زنده بیشتری برخوردار باشند (Carlson *et al.*, 2008; Ispas *et al.*, 2009; Mironava *et al.*, 2010). مطالعات متعدد نشان داده که نانو ذرات اکسید روی برای ماهیان سمی است. در جنین و لارو ماهی گورخری در معرض نانو ذرات اکسید روی، جلوگیری از تخم‌گذاری، مرگ و میر، جراحت بافتی، تأخیر در رشد و ناهنجاری مشاهده شد (Zhu *et al.*, 2008 and 2009; Zhao *et al.*, 2013; Bai *et al.*, 2010). از جمله این مطالعات می‌توان به پژوهش Celik و همکاران (۲۰۱۳) بر روی تأثیرات در معرض قرارگیری با



روی بر روی ذخیره، خون‌شناسی و ایمنی تیلاپای موزامبیک (*Oreochromis mossambicus*)، Hao و همکاران (۲۰۱۳) ذخیره زیستی و غلظت کشنده روی بر روی کپور ماهیان جوان (*Cyprinus carpio*) و Faiz و همکاران (۲۰۱۵) بر روی تأثیر نانو کپسول روی موجود در جیره بر روی رشد و پارامترهای خونی کپور علفخوار جوان (*Ctenopharyngodon idella*) اشاره کرد.

یو و همکاران (۲۰۱۱) LC50 ۹۶ ساعته را ۳/۹۷ میلی‌گرم در لیتر برای نانو ذرات اکسید روی با اندازه اولیه ۳۰ نانومتر مشخص کردند. محلول Zn2 از محلول نانو ذرات اکسید روی پخش شده و باعث مسمومیت می‌شود و تجمع و رسوب‌گذاری نانو ذرات سمت آن را کاهش می‌دهد. نانو ذرات روی یک حالت جدید از روی بوده و توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است. باین‌حال، اثرات سطوح مختلف نانو ذرات روی بر روی کپور علف خوار مورد مطالعه قرار نگرفته است. لذا هدف از این تحقیق بررسی اثر دوزهای مختلف نانو ذرات اکسید روی بر کارایی رشد، تبدیل غذا و بقای ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ماهیان آمور (*Ctenopharyngodon idella*) از یک موسسه تکثیر و پرورش ماهی در استان خوزستان به نام شرکت ماهی کارون شوشتر خریداری و به درمانگاه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر انتقال داده شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و سه تکرار، در ۱۵ تانک (آکواریوم) انجام شد. در هر تانک ۲۵ ماهی نگهداری شد. متوسط طول ماهی $10/3 \pm 0/6$ سانتی‌متر و میانگین وزن $20/0 \pm 3/23$ گرم بود (میانگین \pm انحراف معیار). ماهیان با آب کلرزدایی شده و دوره نور طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی/۱۲ ساعت تاریکی) به مدت ۷ روز تطابق یافتند و دو بار در روز تغذیه شدند. در طول دوره ۶۰ روزه پرورش، دمای آب در رنج ۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

نانو ذرات اکسید روی از شرکت US NANO (US Research Nanomaterials) امریکا خریداری شد. اندازه ذرات بین ۳۰-۴۰ نانومتر بود و خلوص آن ۹۹٫۵ درصد بود. نانو ذرات اکسید روی به حالت محلول و با غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۳، ۰/۸، ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر به آب تیمارها اضافه شد (Lee et al, 2014).

جدول ۱: غلظت نانو ذرات اکسید روی در هر یک از تیمارها.

تیمار	غلظت نانو ذرات در هر تیمار
تیمار ۱	صفر میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی
تیمار ۲	۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی
تیمار ۳	۰/۳ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی
تیمار ۴	۰/۸ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی
تیمار ۵	۲/۴ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی

جیره خوراکی استفاده شده در این تحقیق از نوع غذای تجاری ماهی آمور تولیدشده در شرکت غذای نقشین کرمانشاه بود که ترکیب بیوشیمیایی آن در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲: ترکیب غذایی استفاده شده در آزمایش.

نوع ماده	(%)
پروتئین	۳۵±۱/۴۳
چربی	۱۱/۴±۰/۲۵
رطوبت	۹/۴±۰/۳۲
خاکستر	۱۲/۱±۱/۶

*مقادیر به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شده‌اند.

بعد از ۶۰ روز از آزمایش، ماهیان به صورت انفرادی مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند. برخی از مؤلفه‌های رشد و تغذیه از قبیل افزایش وزن بدن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR) و بقای ماهیان محاسبه شد. مؤلفه‌های رشد بر اساس رابطه‌های زیر محاسبه شد:

Length Gain= final Length - initial Length

رابطه ۱: افزایش طول بدن (FL)

Final Length = طول نهایی

Initial Length = طول اولیه

PER = g live weight gain / g protein intake

رابطه ۲: نسبت کارایی پروتئین (PER) (Helland *et al.*, 1996)

g live weight gain = وزن به دست آمده

g protein intake = گرم پروتئین خورده شده

CF= [w/L] × 100³

رابطه ۳: عامل وضعیت (CF) (Austreng *et al.*, 2000)

L = طول کل ماهی (سانتی‌متر)، W = وزن نهایی ماهی (گرم)

Food conversion ratio (FCR) = food intake (g) / living weight gain (g)

رابطه ۴: ضریب تبدیل غذایی (FCR)

(De Silva and Anderson, 1995)

Food intake = غذای خورده شده

Living weight gain = وزن به دست آمده

SGR=(log final weight-log initial weight)/culture period×100

رابطه ۵: نرخ رشد ویژه (SGR):

(Helland *et al.*, 1996)

S=100×[(N1 FISH- N FISH dead) / N1 FISH]

رابطه ۶: بقاء (%) (Helland *et al.*, 1996)

N1 FISH = تعداد ماهی اولیه،

N FISH dead = تعداد ماهی ثانویه

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 10.0 انجام شد (SPSS Inc., Chicago, USA). تفاوت بین گروه‌ها و شاهد با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و Student's T-test در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مشخص شد.

نتایج

عملکرد رشد ماهی آمور در معرض سطوح مختلف نانو ذرات اکسید روی در جدول ۳ ارائه شده است. ماهیان قرارگرفته در سطوح پایین‌تر نانو ذرات (۰ و ۰/۱ و ۰/۳) کارایی رشد بهتری شامل مؤلفه‌های افزایش وزن بدن، طول نهایی، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، عامل وضعیت و نرخ کارایی پروتئین را نشان دادند ($P < 0.05$). با افزایش در مقدار نانو ذرات اکسید روی یک افزایش در مقدار FCR در تیمارهای حاوی ۰/۸ و ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی مشاهده شد. بالاترین SGR در تیمار دریافت‌کننده ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی به دست آمد و تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) را با تیمارهای دریافت‌کننده ۰/۸ و ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی نشان داد، اما هیچ‌گونه تفاوتی ($P > 0.05$) را تیمارهای دریافت‌کننده ۰ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی نشان نداد. بیشینه عامل وضعیت (۰/۹۳) در تیمار ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی به دست آمد و تفاوت معنی‌داری را با تیمار ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی نشان داد ($P < 0.05$). با افزایش در مقدار نانو ذرات اکسید روی در آب یک‌روند کاهشی در PER مشاهده شد. هیچ‌گونه تلفاتی در طول دوره در هیچ‌یک از تیمارها مشاهده نشد.

جدول ۳: کارایی رشد و بقاء بچه ماهیان آمور (*Ctenopharyngodon idella*) در سطوح مختلف نانو ذرات اکسید روی.

تیمار	۰	۰/۱	۰/۳	۰/۸	۲/۴
وزن نهایی (گرم)	۵۸/۵۶±۱/۱۴a	۵۹/۷۳±۰/۴a	۵۹/۸۵±۱/۴۵a	۴۹/۵۸±۱b	۴۴/۴۵±۱/۱c
طول نهایی (سانتی‌متر)	۲۳/۱۶±۰/۶۱b	۲۴±۰/۴۵ab	۲۵/۰۳±۰/۳۰a	۲۱/۰۸±۰/۶۵c	۲۰/۶۸±۰/۷۲c
نرخ رشد ویژه	۱/۴۱±۰/۱۵a	۱/۴۰±۰/۲۱a	۱/۴۲±۰/۰۶a	۱/۳۴±۰/۱۰b	۱/۳۵±۰/۲۱b
ضریب تبدیل غذایی	۱/۷۲±۰/۰۵b	۱/۶۹±۰/۰۸b	۱/۶۸±۰/۱۵b	۱/۸۰±۰/۱۱a	۱/۸۱±۰/۱۵a
عامل وضعیت	۰/۹۱±۰/۰۹ab	۰/۹۱±۰/۰۳ab	۰/۹۱±۰/۰۸ab	۰/۹۳±۰/۰۵a	۰/۸۹±۰/۰۲b
نرخ کارایی پروتئین	۱/۸۲±۰/۱۵a	۱/۸۶±۰/۰۵a	۱/۸۸±۰/۰۴a	۱/۷۴±۰/۰۸b	۱/۷۲±۰/۱۰b
بقاء (درصد)	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰

*اعداد با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($P > 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

روی یکی از عناصر ضروری کمیاب است و برای رشد بدنی مناسب، لازم است (Paski and Xu, 2001). در انسان‌ها و جانوران رشد ضعیف، علامت بالینی کمبود شدید روی می‌باشد (Hambidge et al., 1986). در این مطالعه ماهیان به مدت ۶۰ روز در مواجهه با سطوح ۰، ۰/۱، ۰/۳، ۰/۸ و ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی قرار گرفتند. با افزایش سطح نانو ذرات اکسید روی افزایش وزن، SGR، FCR، CF و PER به طرز معنی‌داری در سطوح ۰/۸ و ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی کاهش یافت و در سطوح پایین، یعنی تیمارهای دریافت‌کننده ۰/۱ و ۰/۳ تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده نشد. سطح بهینه نانو ذرات اکسید روی کاهش یافت و در سطوح پایین، یعنی تیمارهای دریافت‌کننده ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر بود. با توجه به یافته‌ها، سطوح بیشتر از ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر میل به اثرات سمی دارد و می‌تواند به‌عنوان یک عامل استرس‌زا بر روی رشد ماهی اثرگذار باشد.

این مطالعه باهدف بررسی ارتباط بین غلظت نانو ذرات اکسید روی و طول و وزن ماهی انجام شد. نتایج نشان داد که رابطه منفی بین غلظت نانو ذرات اکسید روی و فاکتورهای رشد ماهی وجود دارد. Nussey و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که افزایش تجمع فلزات در بدن ماهی *Labeo umbratus* باعث کاهش رشد آن می‌شود. در این مطالعه رابطه منفی بین افزایش غلظت نانو ذرات و رشد ماهی مشاهده شد. Widianarko و همکاران (۲۰۰۰) به بررسی رابطه بین غلظت فلزات (Pb, Zn, Cu) و سایز ماهی (*Poecilia reticulata*) پرداختند و دریافتند که با کاهش روی، سایز ماهیان به طرز معنی‌داری افزایش می‌یابد، درحالی‌که غلظت مس و روی بر روی وزن بدن تأثیری نداشتند. آن‌ها نشان دادند که غلظت مس و روی در بدن به‌صورت مداوم تنظیم و در یک غلظت خاص نگهداری می‌شود. مطالعات متعددی خاصیت سمی بودن نانو ذرات اکسید روی را برای ماهیان نشان داده است. در مطالعات قبلی مکانیسم اثرگذاری سمیت نانو ذرات اکسید روی به دلیل آزاد شدن یون روی از آن، گزارش شده است (Franklin et al., 2007; Heinlaan et al., 2008; wiench et al., 2009). درواقع نانو ذرات اکسید روی در غلظت‌های بالا سبب تخریب و آسیب به DNA، پروتئین‌ها و تخریب سلولی می‌شوند و درواقع این مکانیسم‌ها که عامل قدرت ضد باکتریایی نانو ذرات اکسید روی هستند (Heinlaan et al., 2008) خود عاملی برای آسیب به ماهی شده و از این طریق رشد را کاهش می‌دهند. در مطالعات متعددی بر روی جنین لارو ماهی گورخری (*Danio rerio*)، جلوگیری از تخم‌گذاری، مرگ و میر، آسیب بافتی، تأخیر در رشد و ناهنجاری در ماهیان معرض نانو ذرات اکسید روی گزارش شده است (Zhu et al., 2009; Zhou et al., 2008; Zhao et al., 2013) (and Bai et al., 2010). با توجه به یافته‌های حاصل از این مطالعه، بهترین ضریب تبدیل غذایی، نسبت بازده پروتئین، عامل وضعیت و نرخ رشد به ترتیب در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به دست آمد.

اثرات استفاده از سطوح متفاوت نانو ذرات اکسید روی بر روی ماهی کپور علف خوار در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. به‌طور خلاصه نتایج ما نشان داد که نانو ذرات اکسید روی باعث کاهش فاکتورهای رشد شده و می‌تواند باعث بروز حالت‌های مسمومیت در این ماهی شود. ماهیان در معرض ۲/۴-۰/۸ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی، کاهش رشد را نشان دادند. متأسفانه مطالعات مشابهی بر روی دیگر گونه‌ها در مورد اثرات سمیت نانو ذرات اکسید روی صورت نگرفته است و تنها مطالعاتی بر روی اثرات این مواد بر روی دوره‌های جنینی ماهی گوره‌خری صورت گرفته است و در دیگر مطالعات به بررسی اثرات سمیت آن بر برخی فاکتورهای ایمنی در برخی گونه‌ها پرداخته شده است. مطالعات ما نشان داد که اندازه‌گیری فاکتورهای رشد می‌تواند به‌عنوان یک ابزار دقیق برای ارزیابی اثرات سمیت نانو ذرات در ماهی مورد استفاده قرار گیرد. بررسی مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و اکولوژیکی در مواجهه با نانو ذرات اکسید روی می‌تواند در آینده مورد توجه بیشتر محققان قرار گیرد.

سیاسگزاری

این تحقیق برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد، بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی از گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، گروه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، موسسه ماهی کارون شوشتر و همچنین عزیزانی که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند به عمل می‌آید.

منابع

Aitken, R., Chaudhry, M., Boxall, A. and Hull, M., 2006. Manufacture and use of nanomaterials: current status in the UK and global trends. *Occup Medz* 56, 300-306.

Austreng, E., Storebakken, T., Thomassen, M. S., Refstie, S. and Thomassen, Y., 2000. Evaluation of selected trivalent metal oxides as inert markers used to estimate apparent digestibility in salmonids. *Aquaculture* 188(1), 65-78.

- Bai, W., Zhang, Z., Tian, W., He, X., Ma, Y., Zhao, Y. and Chai, Z., 2010.** Toxicity of zinc oxide nanoparticles to zebrafish embryo: a physicochemical study of toxicity mechanism. *J Nanopart Res* 12, 1645–1654.
- Carlson, C., Hussain, S. M., Schrand, A. M., Braydich-Stolle, L. K., Hess, K. L., Jones, R. L. and Schlager, J. J., 2008.** Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species. *J Phys Chem B*. 112(43), 13608–13619.
- Celik, E. S., H. Kaya, S. Yilmaz, M. Akbulut and Tulgar, A., 2013.** Effects of zinc exposure on the accumulation, haematology and immunology of Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Afr J Biotechnol* 12, 744-753
- Chen, J., Liu, M., Zhang, J., Ying, X. and Jin, L., 2004.** Photocatalytic degradation of organic wastes by electrochemically assisted TiO₂ photocatalytic system. *J Environ Manage.* 70(1), 43–47.
- Daughton, C. and Ternes, T., 1999.** Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environ Health Persp.* 107(Suppl; 6), 907.
- De Silva, S. S. and Anderson T. A., 1995.** Fish nutrition in aquaculture. Chapman and Hall press, 319 P.
- Espitia, P. J. P., Soares, N. F. F., Teófilo, R. F., Coimbra, J. S. R., Vitor, D. M., Batista, R. A. and Medeiros, E. A. A., 2013.** Physical-mechanical and antimicrobial properties of nanocomposite films with pediocin and ZnO nanoparticles. *Carbohydrate Polymers* 94(1), 199-208.
- Faiz, H., Zuberi, A., Nazir, S. and Younus, N., 2015.** Zinc Oxide, Zinc Sulfate and Zinc Oxide Nanoparticles as Source of Dietary Zinc: Comparative Effects on Growth and Hematological Indices of Juvenile Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Int J Agric Biol* 17, 568-574.
- Franklin, N. M., Rogers, N. J., Apte, S. C., Batley, G. E., Gadd, G. E. and Casey, P. S. 2007.** Comparative toxicity of nano particle ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalgae (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility. *Environmental Science and Technology* 41, 8484-8490.
- Hambidge, K. M., Casey, C. E. and Krebs, N. F., 1986.** Zinc In: Mertz, W. (Ed.), Trace Elements in Human and Animal Nutrition. Academic Press, Orlando, pp. 1 – 137.
- Handy, R. and Shaw, B., 2007.** Toxic effects of nanoparticles and nanomaterials: implications for public health, risk assessment and the public perception of nanotechnology. *Health Risk Soc* 9, 125–44.
- Hao L., Chen, L., Haom, J. and Zhong, N., 2013.** Bioaccumulation and subacute toxicity of zinc oxide nanoparticles in juvenile carp (*Cyprinus carpio*): a comparative study with its bulk counterparts. *Ecotoxicol Environ Saf* 91, 52-60.
- Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., Dubourguier, H. C. and Kahru, A., 2008.** Toxicity on nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere* 71(7), 1308-1316.
- Helland, S. J., Grisdale-Helland, B. and Nerland, S., 1996.** A simple method for the measurement of daily feed intake of groups of fish in tanks. *Aquaculture* 139(1), 157-163.
- Ispas, C., Andreescu, D., Patel, A., Goia, D. V., Andreescu, S. and Wallace, K. N., 2009.** Toxicity and developmental defects of different sizes and shape nickel nanoparticles in Zebrafish. *Environ Sci Technol* 43, 6349–6356.
- Lee, J. W., Kim, J. E., Shin, Y. J., Ryu, J. S., Eom, I. C., Lee, J., Kim, Y., Kim, P. J., Choi, K. H. and Lee, B.C., 2014.** Serum and ultra structure responses of common carp (*Cyprinus carpio* L.) during long-term exposure to zinc oxide nanoparticles. *Ecot Environ Saf* 104, 9–17.
- Lovern, S. B. and Klaper, R., 2006.** *Daphnia magna* mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene (C60) nanoparticles. *Environ Toxicol Chem* 25, 1132–1137.
- Maier, T. and Korting, H., 2005.** Sunscreens-which and what for? *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 18, 253–262.
- Mironava, T., Hadjiargyrou, M., Simon, M., Jurukovski, V. and Rafailovich, M. H., 2010.** Gold nanoparticles cellular toxicity and recovery: effect of size, concentration and exposure time. *Nanotoxicology* 4, 120–137.
- Nagaveni, K., Sivalingam, G., Hegde, M. S. and Madras, G., 2004.** Photocatalytic degradation of organic compounds over combustion-synthesized nano-TiO₂. *Environ Sci Technol* 38, 1600–1604.

Nowack, B. and Bucheli, T., 2007. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. Environ Pollut 150, 5-22.

Paski, S. C. and Xu, Z., 2001. Labile intracellular zinc is associated with 3T3 cell growth. J Nutr Biochem 12, 655-661.

Ternes, T., Joss, A. and Siegrist, H., 2004. Peer reviewed: scrutinizing pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment. Environ Sci Technol 38, 392-399.

Wiench, K., Wohlleben, W., Hisgen, V., Radke, K., Salinas, E., Zok, S. and Landsiedel, R. 2009. Acute and chronic effects of nano and non nano scale TiO₂ and ZnO particles on mobility and reproduction of the freshwater invertebrate *Daphnia magna*. Chemosphere 76, 1356-1365.

Yu, L., Fang, T., Xiong, D., Zhu, W. and Sima, X., 2011. Comparative toxicity of nano-ZnO and bulk ZnO suspensions to zebrafish and the effects of sedimentation, \cdot OH production and particle dissolution in distilled water. J Environ Monit 13(7), 1975-1982.

Zhang, L., Ding, Y., Povey, M. and York, D., 2008. ZnO nanofluids-A potential antibacterial agent. Pro Natural Sci 18(8), 939-944.

Zhao, X., Wang, S., Wu, Y., You, H. and Lv, L., 2013. Acute ZnO nanoparticles exposure induces developmental toxicity, oxidative stress and DNA damage in embryo-larval zebrafish. Aquat Toxicol (136), 49-59.

Zhu, X., Zhu, L., Duan, Z., Qi, R., Li, Y. and Lang, Y., 2008. Comparative toxicity of several metal oxide nanoparticle aqueous suspensions to Zebrafish (*Danio rerio*) early developmental stage, J Environ. Sci Health 43(3), 278-284.

Zhu, X., Wang, J., Zhang, X., Chang, Y. and Chen, Y., 2009. The impact of ZnO nanoparticle aggregates on the embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*). Nano-technology 20(19), 195103.

