

## میزان تجمع مس در بافت های عضله و هپاتوپانکراس میگوی وانامی پس از مواجهه با نانو ذرات سنتز شده اکسید مس

هانیه صدرالساداتی<sup>۱</sup>، علی ماشینچیان مرادی<sup>۱\*</sup>، محمد افشارنسب<sup>۲</sup>، پرگل قوام مصطفوی<sup>۱</sup>  
احسان رمضانی فرد<sup>۱</sup>

۱- گروه علوم دریایی، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران  
۲- گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده علوم دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۶/۲۵

### چکیده

در تحقیق حاضر، تجمع نانوذرات اکسید مس روی بافت های عضله و هپاتوپانکراس میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) مورد بررسی قرار گرفته است. بدین منظور ابتدا نانوذرات اکسید مس به روش ترسیب شیمیایی سنتز شده و با استفاده از تکنیک های دقیق FTIR, XRD, AFM, SEM و DLS مورد مطالعه قرار گرفت، سپس میزان تجمع آن ها بر روی میگوی وانامی ارزیابی شد. در این مطالعه میزان تجمع زیستی نانوذرات اکسید مس بر روی بافت های عضله و هپاتوپانکراس پس از مواجهه با سه غلظت ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر انجام شد. براساس یافته های به دست آمده در این تحقیق، میانگین تجمع مس در تیمار های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر در بافت عضله به ترتیب ۱۸/۶۷۶، ۱۸/۵۸۵ و ۱۸/۴۸۴ میلی گرم بر کیلوگرم و میزان غلظت مس در بافت هپاتوپانکراس در تیمارهای فوق الذکر، به ترتیب ۱۵/۶۲۴، ۱۵/۳۵۱ و ۱۴/۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود. نتایج نشان دادند که میزان تجمع مس در بافت عضله بیشتر از هپاتوپانکراس است که در تیمار ۳ (غلظت ۱ میلی گرم بر لیتر) این تفاوت از نظر آماری معنی دار می باشد ( $P < 0.05$ ). در بافت عضله تفاوت چندانی میان غلظت مس در تیمارهای مختلف وجود ندارد و اختلاف معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ). با افزایش غلظت مس در تیمارهای مورد بررسی، غلظت مس در نمونه های بافت هپاتوپانکراس مربوط به هر تیمار، کاهش یافت که نشان دهنده رابطه معکوس این دو پارامتر بود ( $P > 0.05$ ,  $r = -0.45$ ). طبق نتایج تحقیق حاضر مشخص گردید که میانگین غلظت مس در دو بافت مورد مطالعه پایین تر از حد مجاز استانداردهای بهداشت جهانی است و به نظر می رسد مصرف آن موجب به خطر افتادن سلامت انسان نمی شود.

**کلمات کلیدی:** نانوذرات اکسید مس، اثرات نیمه حاد، میگوی سفید غربی.

## مقدمه

نانومواد عبارتند از یک ماده طبیعی، تولید شده به صورت اتفاقی یا ساخته شده به دست بشر که حاوی ذراتی به صورت آزاد، تجمع یافته و یا مترکم نشده بوده و در یک بعد دارای اندازه ای بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر باشند. نانوفناوری کاربردهای بسیار زیادی در بخش های مختلف از کشاورزی گرفته تا صنعت و مواد دارد ( Sekhon, 2014; Rather *et al.*, 2011 and Zhang *et al.*, 2007).

نانو ذراتی که بر پایه مس ساخته شده اند، یکی از پرکاربردترین نانوذرات هستند که در زمینه های مختلفی مورد استفاده قرار می گیرند ( Ebrahimnia *et al.*, 2011; Guo *et al.*, 2002; Magdassi *et al.*, 2010; Sahiti *et al.*; Saha *et al.*, 2009; Grigore *et al.*, 2016 and Wu *et al.*, 2008). بنابراین، این احتمال وجود دارد که استفاده گسترده از آنها باعث انتشار این مواد در محیط زیست شود و بالطبع نگرانی درباره میزان سمیت آنها نیز افزایش پیدا خواهد کرد، تا آن اندازه که در سال ۲۰۱۱ میزان رهایش آن به اکوسیستم های آبی ۱۱ تن بوده و این رهایش هر سال نیز بیشتر شده است (Kahru *et al.*, 2008). تا کنون بیشتر پژوهش ها بر روی جنبه های بهداشتی و ایمنی این عناصر صورت گرفته و اثرات منفی آن ها بر روی بوم سازگان های مختلف به خصوص بوم سازگان های دریایی کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است (احمدی و همکاران، ۱۳۹۵).

مس از جمله فلزاتی است که در مقادیر کم برای گیاهان و جانوران عالی مورد نیاز است. این فلز به مقدار کم برای سخت پوستان ضروری بوده و در ساخت سلول های خونی و فعالیت برخی آنزیم ها نقش

مهم دارد (Abad-Rosales, 2010). به طور مثال در میگو رنگدانه حمل اکسیژن یا هموسیانین، حاوی مس است. با این حال مقدار زیاد این فلز در محیط زیست آبرزیان می تواند اثرات سمی بر روی آن ها گذاشته و تنظیمات فیزیولوژیکی و متابولیکی را در آن ها تغییر دهد و باعث کاهش رشد گردد (Chen *et al.*, 2013). قرار گرفتن در معرض غلظت های بالای مس می تواند با پایین آوردن سطح گلوکاتایون (Speisky *et al.*, 2009)، سرعت بخشیدن تشکیل اکسیژن فعال با واکنش فتون مانند (Prousek, 2007) و در ارتباط با آنزیم های آنتی اکسیدانی، اثرات زیان آوری خصوصا بر میگو داشته باشد (Isani *et al.*, 2013). این سمیت همچنین باعث تجمع بالا در آبشش شده و کاهش فعالیت کولین استراز به همراه دارد و در نهایت باعث آسیب عصبی می گردد (Zhao *et al.*, 2011). افزایش این فلز به صورت آزاد در خون باعث نیز افزایش گونه های فعال اکسیژنی از جمله رادیکال های آزاد، سوپراکسید، آب اکسیژنه و در نهایت رادیکال آزاد هیدروکسیل می گردد (Osredkar and Sustar, 2011).

میگوی پاسبید غربی (*Litopenaeus vannamei*) از آبرزیان با ارزش اقتصادی-شیلاتی و پرورشی در جهان است و از سال ۲۰۰۳ به بعد رتبه اول گونه پرورشی در جهان، گونه فوق بوده است. این گونه به دلیل تحمل دامنه گسترده ای از درجات شوری آب، دمای آب و مقاوم بودن در مقابل بیماری ها در بسیاری از کشورها از جمله ایران به عنوان مهم ترین میگوی پرورشی مورد توجه قرار گرفته است (افشارنسب و همکاران، ۱۳۹۳). اما متأسفانه در سال های اخیر به دلیل آلودگی های مختلف از جمله آلودگی های نفتی، فاضلاب ها و ورود نانو مواد از جمله مس به زیستگاه-

SEM (هیتاچی S-4800 II، ژاپن) مجهز به اسپکتروسکوپی تفرق انرژی (EDXS) انجام شد. طیف IR با کمک دستگاه نیکولت مگنا ۵۵۰ در محدوده  $4000-400 \text{ cm}^{-1}$  با استفاده از KBr انجام گردید. اندازه نانوذرات با دستگاه Nano-ZS 90، مالورن ساخت انگلستان تخمین زده شد. در حین انجام واکنش دما در  $25^{\circ}\text{C}$  ثابت نگه داشته و تست مزبور سه بار انجام شد. مقدار Cu با کمک پلاروگرافی (Metrohm-797) تعیین شد (Phiwdang *et al.*, 2013).

تحقیق انجام شده در پژوهشکده میگوی کشور در استان بوشهر صورت گرفت. ابتدا تعداد ۱۲ آکواریوم مورد نیاز با ابعاد  $60 \times 50 \times 50$  آماده و با مواد شوینده شسته شدند و در هوای آزاد قرار گرفتند. سنگ های هوا و پمپ هوا نیز آماده شد. سپس آکواریوم ها، با آب دریا آگیری شده و در دمای محیط آزمایشگاه در  $33^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد قرار گرفتند. تعداد ۲۰۰ قطعه میگو حدود ۱۱-۹ گرمی از کارگاه تکثیر پرورش میگو در شهرستان شیخ تهریه شد. میگوها در هر ۱۲ آکواریوم تقسیم شدند (هر آکواریوم ۱۵ عدد میگو) و به مدت یک هفته آدآپتاسیون صورت گرفت. غذا دهی دو بار در روز انجام شد.

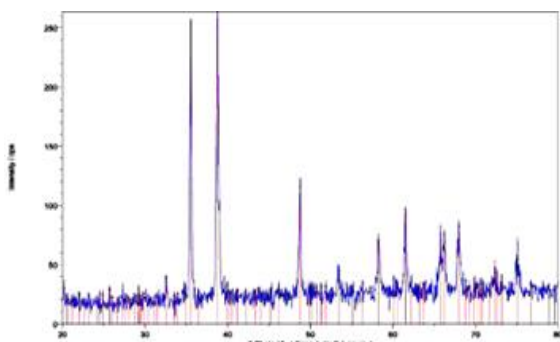
بر اساس غلظت آزمون سمیت نیمه حاد، غلظت-های نانو ذره که در واقع تیمار های آزمایش بودند، عبارت از ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر و با سه تکرار که به آب آکواریوم ها اضافه شد و این آزمون به مدت ۲۱ روز انجام گرفت. گروه شاهد با غلظت ۰ میلی گرم بر لیتر نیز با ۳ تکرار در نظر گرفته شد. جهت انجام مطالعات سنجش میزان فلز مس در دو بافت عضله و هیپوتوپانکراس بعد از پایان روز بیست و یکم، نمونه برداری صورت گرفت و از هر آکواریوم سه نمونه

های طبیعی و مراکز پرورش آبیان تولید این نوع میگو با مشکلات فراوان مواجه شده است (Huang *et al.*, 2015).

در مطالعه حاضر سعی شده است با توجه به اهمیت نانوذرات مس و افزایش کاربرد این مواد در زمینه های مختلف میزان سمیت آن بر روی دو بافت عضله و هیپوتوپانکراس میگوی وانامی که محلی برای جذب و ذخیره سازی مس هستند مورد بررسی قرار گیرد.

## مواد و روش ها

در این تحقیق اثرات نانوذرات مس بر روی بافت-های مختلف میگوی وانامی مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به اینکه روش خاصی برای سنجش نانوذرات در بدن موجودات وجود ندارد، لذا از روش سنجش فلز مس، به بررسی میزان غلظت این فلز درون دو بافت عضله و هیپوتوپانکراس میگوی وانامی پرداخته شد. نانوذرات اکسید مس به روش هم رسوبی با استفاده از نترات مس و هیدروکسید سدیم به عنوان واکنش گر ها، به دست آمد. محلول مشترک نترات مس در ۱۰۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر، تهیه شد. محلول سود با هم زدن مداوم به این محلول اضافه و pH آن به ۱۴ رسید. سپس جسم باقی مانده سیاه رنگ با سانتریفیوژ جدا و با اتانول شسته شد تا pH آن به ۷ رسید. مواد به دست آمده یک شبانه روز در دمای  $80^{\circ}\text{C}$  خشک شد و رسوبات در درون کوره در دمای  $500^{\circ}\text{C}$  به مدت ۴ ساعت قرار گرفت. شناسایی اکسید مس با روش FTIR, XRD, SEM, TEM و UV-Vis انجام شد. (پراش) اشعه ایکس با دستگاه X'pert 1710 ثبت شد و دیفرانکتومتر  $\text{CuK}\alpha$  ( $\alpha = 1.54056 \text{ \AA}$ ) در محدوده هندسی براگ - برانتانو ( $2\theta$ ) ثبت شد. ساختار محصولات با دستگاه



شکل ۱: الگوی پراش اشعه ایکس نانوذرات اکسید

شکل ۱ XRD نانوذرات را نشان می‌دهد. جهت گیری و طبیعت کریستالی ساختار نانوذرات مس را مشخص می‌کند. موقعیت های پیک در  $2\theta$  های  $35.1^\circ$ ،  $38.1^\circ$ ،  $48.1^\circ$ ،  $53.4^\circ$ ،  $61.5^\circ$ ،  $65.7^\circ$ ،  $75.0^\circ$  و  $78.0^\circ$  با صفحات (۰۰۲)، (۱۱۱)، (۰۰۲)، (۲۰۲)، (۰۲۰)، (۱۱۳)، (۳۱۱)، (۱۱۳)، (۲۰۲)، (۱۱۳) و (۰۰۴) در توافق کامل با JCPDS شماره ۸۰۱۲۶۸ می‌باشند که نشان می‌دهد ساختار کریستالی نانوذرات مس تشکیل شده است. عدم وجود پیک اضافی نشان دهنده خلوص نانوذرات مس می‌باشد.

طیف FTIR نانوذرات اکسید مس در شکل ۲ قابل مشاهده است. باندهای جذبی در  $523\text{ cm}^{-1}$  و  $\text{cm}^{-1}$  نشان دهنده ارتعاشات منحنی پیوند Cu-O است. طیف نشان دهنده خصوصیات زیر است: پیک های کششی نامتقارن و  $595/43\text{ cm}^{-1}$  (گهواره ای Cu-O) که نشان دهنده حضور گروه فلز-اکسید در ساختار هستند. پیک ارتعاشی در محدوده  $3464\text{ cm}^{-1}$  نشان دهنده حضور گروه هیدروکسید در نمونه است. این امر به علت اتصال آب به سطح نانوذرات اکسید مس است و می‌تواند به عنوان یکی از محصولات جانبی واکنش باشد که با حرارت دادن از بین می‌رود. پیوند فلز-اکسیژن در  $1450/55\text{ cm}^{-1}$  (ارتعاشات M-O در

برای بررسی و سنجش میزان فلز مس برداشته شد. بعد از جداسازی عضله و هیپاتوپانکراس، به منظور اندازه گیری میزان غلظت فلز مس و خشک شدن نمونه‌ها، آن‌ها را درون پتری دیش قرار داده و به آون انتقال داده شد (دما  $105^\circ\text{C}$  به مدت ۲۴ ساعت).

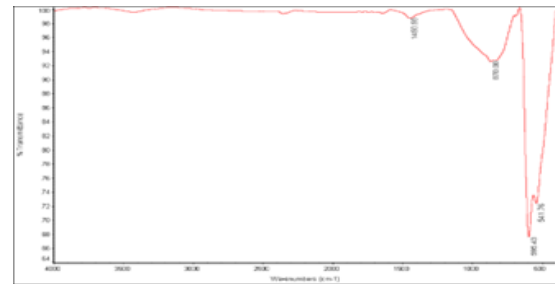
پس از خشک شدن نمونه‌ها، درون هاون سائیده شده و سه میگو در هر تکرار با یکدیگر ادغام شدند. برای هضم نمونه‌ها از اسید سولفوریک و آب اکسیژنه (نسبت ۱ به ۱) استفاده گردید که روش استاندارد به کار رفته برای هضم از کتاب Moopam بوده است (Moopam, 1999). به طور خلاصه، ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک به  $0.25$  گرم از پودر بافت مورد نظر اضافه شده و سپس به آن حرارت داده تا محلول سیاه رنگ شود. سپس ۵ میلی لیتر آب اکسیژنه قطره قطره به آن اضافه شد، تا محلول شفاف به دست آید. پس از آن حرارت را قطع نموده و فرصت داده می‌شود تا محلول سرد شود. محلول به دست آمده را توسط کاغذ فیلتر واتمن ۴۲ صاف کرده و در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتری به حجم رسانده می‌شود. سپس جهت تعیین میزان غلظت فلز مس از دستگاه پلاروگراف Metrohm 797 استفاده شد. نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS بر اساس آنالیز واریانس یک طرفه، آنالیز واریانس دوطرفه، تست تکمیلی توکی و ضریب همبستگی پیرسون مورد ارزیابی آماری قرار گرفت.

## نتایج

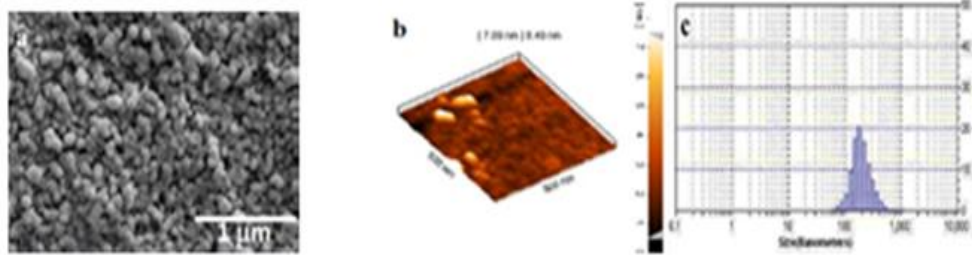
نانوذرات اکسید مس با روش قبلی سنتز شدند و با روش های مختلف SEM و PLS و FTIR و XRD (شکل های ۱ تا ۳) شناسایی شدند.

شکل و اندازه CuO با SEM (میکروسکوپ الکترونی روبشی) در شکل ۳a و نیز میکروسکوپ نیرویی اتمی (AFM) در شکل ۳b مشخص است. این تصاویر نشان می دهند که نانوذرات CuO شکل کروی دارند و اندازه ذرات ۱۰۰-۴۰۰ nm می باشد. اندازه کریستالی متوسط نانوذرات CuO با تکنیک DLS (شکل ۳c) بررسی شده است.

صفحه ) و در  $1632\text{ cm}^{-1}$  (ارتعاشات خارج از صفحه) نشان دهنده تشکیل CuO از پیش ماده است. باند جذبی ضعیف در  $2300\text{ cm}^{-1}$  به علت ارتعاشات  $\text{CO}_2$  اتمسفری است. این داده ها در توافق با مقادیر گزارش شده است (Phiwdang *et al.*, 2013).



شکل ۲: FTIR نانوذرات اکسید مس



شکل ۳: (a) SEM، (b) AFM و (c) DLS نانوذرات اکسید مس سنتز شده

جدول ۱: میانگین غلظت مس در بافت های عضله و هیپاتوپانکراس میگوی وانامی میلی گرم بر کیلوگرم (وزن خشک)

هیپاتوپانکراس	عضله	بافت
a $16/711 \pm 0/07$	a $17/666 \pm 0/09$	شاهد
b $15/624 \pm 0/53$	b $18/676 \pm 0/31$	غلظت ۰/۲۵
b $15/351 \pm 0/01$	b $18/585 \pm 0/16$	غلظت ۰/۵
c $14/25 \pm 0/18$	b $18/484 \pm 0/25$	غلظت ۱

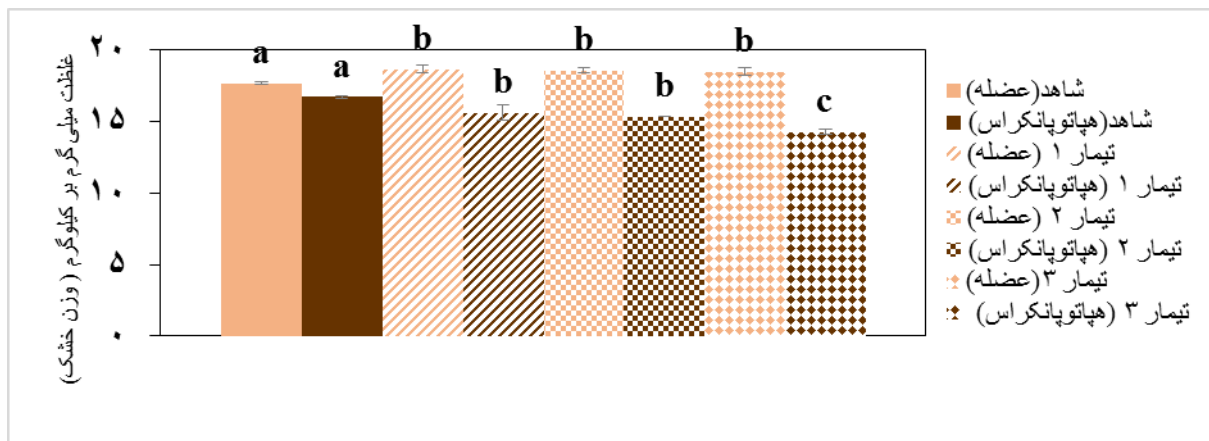
مقادیری که در هر ستون با حروف متفاوت نشان داده شده اند دارای اختلاف آماری معنی دار ( $P < 0.05$ ) هستند (انحراف معیار  $\pm$  میانگین).

میانگین غلظت مس در بافت های عضله و هیپاتوپانکراس میگوی وانامی در جدول ۱ مشخص شد. نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه و تست تکمیلی توکی در بافت عضله نشان داد که، بین گروه های تیمار با گروه شاهد اختلاف معنی دار وجود دارد اما در سه گروه تیمار از نظر غلظت مس در بافت عضله اختلاف معنی دار مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ).

همچنین نتایج نشان داد که بین هر سه گروه تیمار در بافت هیپاتوپانکراس با گروه شاهد اختلاف معنی دار

دار وجود دارد ( $P < 0.05$ ). نتایج در شکل ۴ نشان داده شده است.

وجود دارد ( $P < 0.05$ ) و همچنین بین تیمار ۱ با تیمار ۳ و تیمار ۲ با تیمار ۳ از نظر غلظت مس اختلاف معنی



شکل ۴: نمودار مقایسه ای غلظت مس در دو بافت عضله و هپاتوپانکراس میگوی وانامی (شاهد، تیمار ۱ (غلظت ۰/۲۵)، تیمار ۲ (غلظت ۰/۵) و تیمار ۳ (غلظت ۱)) حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار است ( $P < 0.05$ ).

چندین لوله به هم چسبیده می باشد. در بافت پوششی توبول ها چندین نوع سلول دیده می شود که یکی از آن ها سلول های جذبی-ترشحی است که انجام عمل سم زدایی با نگهداری فلزات سنگین را به عهده دارد. همچنین از وظایف مهم این ارگان سنتز و ترشح آنزیم-هایی است که در صورت ورود هر ذره غیرطبیعی، این آنزیم ها واکنش نشان داده و ترشح می شوند در نتیجه باعث کاهش غلظت ماده وارده به درون بدن می گردند (Sreeram and Menon, 2005). این موضوع می تواند غلظت کمتر مس در بافت هپاتوپانکراس را نسبت به عضله توجیه کند. این یافته با پژوهش عبدالله پور و همکاران در سال (۲۰۱۵) که میزان تجمع چند فلز از جمله مس را بر روی بافت هپاتوپانکراس میگوی *Metapenaeus affinis* مورد بررسی قرار دادند، مطابقت داشت و میزان این فلز در بافت مذکور کمتر از سایر عناصر بود. به طور کلی تفاوت غلظت فلزات سنگین در بافت های گوناگون آبزیان می تواند ناشی از تفاوت نیازهای اکولوژیک و فعالیت های متابولیک در

نتایج حاصل از آنالیز واریانس دو طرفه، اثر هم زمان تیمار و بافت را بر روی میزان غلظت مس مورد بررسی قرار داد و مشخص گردید که اثر هم زمان تیمار و بافت باعث تفاوت معنی دار در غلظت مس در بافت ها و تیمارهای مختلف خواهد شد ( $P < 0.05$ ).

## بحث

مس یک ترکیب ضروری برای سخت پوستان است. هموسیانین یک پروتئین بزرگ حاوی مس است که در نقل و انتقال اکسیژن در همولف سخت پوستان ایفای نقش می نماید. اما زمانی که این عنصر از حد فراتر رود باعث بروز مسمومیت در میگوها می شود (Abad-Rosales et al., 2010).

نتایج به دست آمده نشان داد که میانگین غلظت مس در دو بافت مورد مطالعه در میگو با یکدیگر متفاوت است. غلظت فلز مس در بافت عضله بیشتر از غلظت این فلز در بافت هپاتوپانکراس بود. هپاتوپانکراس به صورت یک اندام توبولار متشکل از

آزریان باشد (Mendez et al., 1997).

در مطالعه ای که در منطقه شمال غرب مکزیک انجام شد، غلظت شش فلز نیکل، کادمیوم، آهن، روی، منگنز و مس بر روی هیپاتوپانکراس میگوی کالیفرنیا اندازه گیری شد. مشخص شد که بیشترین غلظت مربوط به کادمیوم، آهن و روی بود که در هیپاتوپانکراس جذب شده بودند. بنابراین هر اندامی گیرنده یک فلز خاص می باشد و بر اساس آن می تواند یک غلظت خاص از آن فلز را در خود داشته و ذخیره کند (Mendez et al., 1997). این نتیجه با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر که نشان داد غلظت مس در هیپاتوپانکراس کمتر است مطابقت داشت (Paez-Osuna and Tron-Mayen, 1996).

در مطالعه پورنگ و همکاران که بر روی بافت عضله میگوی ببری سبز و پاسبید انجام شد، مقدار فلز مس در بافت عضله نمونه های تحت بررسی به ترتیب ۱۷/۹ و ۱۷/۴ ppm وزن خشک اندازه گیری شد. محدوده غلظت فلز مس در میگوهای خلیج فارس ۲۰/۳- ۲/۴ ppm وزن خشک است. با توجه به این نکته مشخص شد که نتایج پژوهش حاضر دور از انتظار نیست و در محدوده تعیین شده قرار دارد.

مطالعات Silva و همکارانش در سال (۲۰۱۶) نشان

داد که میزان غلظت فلز مس در عضله میگوی وانامی بیشتر از دو بافت دیگر (اسکلت خارجی و اندام احشایی) می باشد و نتایج این بررسی نیز موید این مطلب می باشد. تفاوت در میزان غلظت فلزات می تواند مربوط به اندام، گونه و محل نمونه برداری نیز باشد. همچنین تفاوت در عادات غذایی آبزیان می تواند منجر به سطوح مختلف فلزات سنگین در بافت های آنها شود (Abdolahpur Monikh et al., 2015).

در مجموع میزان غلظت فلز مس در بافت عضله این نوع میگو از میزان استانداردهای جهانی پایین تر بود و مصرف آن خطری برای انسان ندارد. این نتیجه با نتایج Turkman در سال (۲۰۱۲) و Olgunoglu در سال (۲۰۱۴) که میزان غلظت این فلز را در عضله انواع میگو بر اساس استانداردهای جهانی مقایسه کردند، مطابقت داشت. طبق آن بررسی میزان غلظت فلز مس از استانداردهای WHO و FDA کمتر و استفاده از آنها خطری برای سلامتی انسان ندارد. در نهایت با توجه به مجموع نتایج به دست آمده از این تحقیق و بر اساس جدول ۲ استفاده از نانوذره مس در محل زیست میگوها نمی تواند خطرات زیادی را برای انسان به همراه داشته باشد، اما مناسب است تحقیقات جامع تری درباره سایر نانوذرات نیز انجام شود.

جدول ۲: میزان فلز مس در سخت پوستان در مقایسه با استانداردهای جهانی

منابع	مس	استانداردهای جهانی
MAFF(۱۹۹۵)	۲۰	وزارت کشاورزی، جنگلداری و ماهیگیری
WHO (۲۰۰۰)	۱۰	سازمان بهداشت جهانی
FAO (۱۹۹۲)	۲۰-۳۰	سازمان غذا و کشاورزی
FDA (۲۰۰۹)	۳۰	سازمان غذا و دارو
مطالعه حاضر (عضله)	۱۸/۵۸۱	تحقیق حاضر

- Duangthongsuk, W. and Wangwises, S., 2011. Numerical investigation of effective parameters in convection heat transfer of nanofluids flowing under a laminar flow regim. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 54(19-20), 4376-4388.
7. Grigore, M.E., Biscu, E.R., Holban, A.M., Gestal, M.C. and Grumezescu, A.M., 2016. *Methods of Synthesis, Properties and Biomedical Applications of CuO Nanoparticles*. Pharmaceuticals (Basel), 9(4), 75-85.
  8. Guo, k., Pan, Q., Wang, L. and Fang, S., 2002. Nano-scle copper-coated graphite as anode material for lithium-ion batteries. *Journal of Applied Electrochemistry*, 32(6), 679-685.
  9. Huang, S., Wang, L., Liu, L., Hou, Y. and Li, L., 2015. Nanotechnology in agriculture, Livestok and aquaculture in China. *Journal Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 369-400.
  10. Isani, G., Letiza Falcioni, M., Barucca, G., Sekar, D., Andreani, G. and Carpena, E., 2013. Comparative toxicity of CuO nanoparticles and CuSo<sub>4</sub> in rainbow trout. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 97, 40-46.
  11. Kahru, A., Charles Dubourguier, H., Blinova, I., Ivask, A. and Kasemets, K., 2008. Biotests and biosensors for ecotoxicology of metal oxide nanoparticles: A minireview. *Sensors*, 5153-5170.
  12. Magdassi, Sh., Grouchko, M. and Kamyshny, A., 2010. Copper Nanoparticles for Printed Electronics: Routes Towards. *Journal Materials*, 3(9), 4626-4638.
  13. Mendez, L., Acosta, B., Palacois, E. and Magallon, F., 1997. Effect of stocking densities on trace metal concentration in three tissues of brown shrimp *Penaeus californiensis*. *Aquaculture*, 156, 21-34.
  14. MOOPAM (Manual of Oceanographic Observation and Pollution Analysis), 1999. Regional organization for the protection of marine environmental (ROPME, Kuwait), 220p.
  15. Olgunoglu, M.P., Olgunoglu, I.A. and Bayhan, Y.K., 2014. Heavy Metal

## سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

## منابع

۱. احمدی، ح.، نعیمی، ا.، نظر حقیقی، ف.، غفوری، ح.، ۱۳۹۵. اثرات نیمه مزمن نانوذره‌ی اکسید مس بر برخی پارامترهای خونی و بافت آبشش بچه- ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبی‌پروری، ۱۰(۴)، ۱-۱۴.
۲. افشارنسب، م.، فرامرزی، م.، جوادزاده، ن.، پذیر، خ.، ۱۳۹۳. بررسی ماکروبتوزها و شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب استخرهای پرورش میگوی پاسبید غربی (*Litopenaeus vannamei*) در سایت پرورش میگوی شیف- بوشهر. نشریه توسعه آبی‌پروری، ۸(۱)، ۱-۱۷.
3. Abad-Rosales, S.M., Frias-Espericueta, M.G., Inzunza-Rojas, A., Osuna-Lopez, A., Paez-Osuna, F., Lozano-Olvera, R. and Voltolina, D., 2010. Histological effects of Cu<sup>2+</sup> to white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda) juveniles at low salinities. *Revista de Biologia Marina y Oceanografia*, 45(1), 99-105.
4. Abdolapur Monikh, F., Maryamabadi, A., Savari, A. and Ghanemi, K., 2015. Heavy metals concentration in sediment, shrimp and fish species from northwest Persian Gulf. *Journal of toxicology and industrial health*, 31(6), 554-565.
5. Chen, Q.L., Lou, Z., Pan, Y.X., Zheng, J.L., Zhu, Q.L., Sun, L.D., Zhou, M.Q. and Hu, W., 2013. Diffrential induction of enzymes and genes involved in lipid metabolism in liver and visceral adipose tissue of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* exposed to copper. *AquaticToxicology*, 136-137, 72-78.
6. Ebrahimnia-Bajestan, E., Niazmand, H.,

- Applications, 7, 31-53.
24. Silva, E., Vina, Z.C., Onfer, C.R.E., Korn, M.G.A. and Santos, V.L.C.S., 2016. Distribution of trace elements in tissues of shrimp species *Litopenaeus vannamei* (Boon, 1931) from Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 76(1), 194-204.
  25. Speisky, H., Gomes, M., Burgos-Bravo, F., Lopez-Alarcon, C., Jullian, C. and Olea-Azar, C., 2009. Generation of superoxide radicals by copper-glutathione complexes: redoxconsequences associated with their interaction with reduced glutathione. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17(5), 1803-1810.
  26. Sreeram, M.P. and Menon, N.R., 2005. Histopathological changes in the hepatopancreas of the penaeid shrimp *Metapenaeus dobsoni* exposed to petroleum hydrocarbons. *Journal of Marine Biological Association of India*, 47(2), 160-168.
  27. Turkmen, G., 2012. Seasonal Variation of Heavy Metal in Shrimp *Penaeus kerathurus* (Forsk. 1775) from Izmir Bay, Turkey. *Journal of Anima and Veterinary Advances*, 11(15), 2839-2844.
  28. Wu, Y., Wadia, C., Ma, W., Sadtlers, B. and Alivisatos, A.P., 2008. Synthesis and Photovoltaic Application of Copper (I) Sulfide Nanocrystals. *Nano Letters*, 8(8), 2551-2555.
  29. Zhang, L., Gu, F.X., Chan, J.M., Wang, A.Z., Langer, R.S. and Farokhzad, O.C., 2007. Nanoparticles in Medicine: Therapeutic Applications and Developments. *Journal Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 32, 761-769.
  30. Zhao, J., Wang, Z., Li, X., Xie, X., Zhang, K. and Xing, B., 2011. Distribution of CuO nanoparticles in juvenile carp (*Cyprinus carpio*) and their potential toxicity. *Journal of Hazardous Materials*, 197, 304-310.
  - Concentration (Cd, Pb, Cu, Zn, Fe) in Giant Red Shrimp (*Aristaeomorpha foliacea* Risso 1827) from the Mediterranean Sea. *Journal Environmental Studies*, 24(2), 631-635.
  16. Osredkar, J. and Sustar, N., 2011. Copper and Zinc, Biological Role and Significance of Copper/Zinc Imbalance. *Journal Clinical Toxicology*, 1-18.
  17. Paez-Osuna, F. and Tron-Mayen, L., 1996. Concentration and distribution of heavy metals in tissue of wild and farmed shrimp *Penaeus vannamei* from the northwest coast of Mexico. *Environment International*, 22(4), 445-450.
  18. Phiwdang, K., Suphankij, S., Mekprasart, W. and Pecharapa, W., 2013. Synthesis of CuO Nanoparticles by Precipitation Method Using Different Precursors. *Energy Procedia*, 34, 740-745.
  19. Prousek, J., 2007. Fenton chemistry in biology and medicine. *Pure and Applied Chemistry*, 79(12), 2325-2338.
  20. Rather, M.A., Sharma, R., Aklakur, M., Ahmad, S., Kumar, N., Khan, M. and Ramya, V.L., 2011. Nanotechnology: A Novel Tool for Aquaculture and Fisheries Development A Prospective Mini-Review. *Journal Fisheries and Aquaculture*, FAJ-16.
  21. Saha, A., Saha, D. and C.Ranu, B., 2009. Copper nano-catalyst: sustainable phenylselenylation of aryl iodides and vinyl bromides in water under ligand free conditions. *Journal Organic & Biomolecular Chemistry*, 7(8), 1652-1657.
  22. Sahiti, K., Swetha, M., Prabakaran, M., Moorthi, A., Saranya, N., Ramasamy, K., Srinivasan, N., Partridge, N.C. And Selvamurugan, N., 2010. Synthesis and characterization of nanoscale hydroxyapatite-copper for antimicrobial activity bone tissue engineering applications. *Journal Biomedical Nanotechnology*, 6(4), 333-339.
  23. Sekhon, B.S., 2014. Nanotechnology in agri-food production. *Journal Nanotechnology, Science and*