



## ارزیابی تأثیر نانوذرات اکسید روی به عنوان ضد فولینگ دوستدار محیط زیست در رنگ اپوکسی بر قفس پرورش ماهی دریایی

ساجده مزارعی<sup>۱</sup>، محسن صفائی<sup>۱\*</sup>، احمد همایی<sup>۲</sup>، زهرا قاسمی<sup>۱</sup>

<sup>۱\*</sup> - گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

<sup>۲</sup> - گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	
تاریخچه مقاله:	
دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۰۷	
پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۳	
کلمات کلیدی:	
نانوذرات	
ضد فولینگ	
ضد جلبک	
ضد باکتری	
رنگ غیر سمی	
	<p><b>مقدمه:</b> فولینگ زیستی به فرآیند چسبیدن و رشد موجودات بر روی سطوح در آبهای دریایی اطلاق می‌شود. این پدیده از مشکلات عمده صنایع دریایی مانند صنایع آبی‌پروری محسوب می‌شود و بنابراین رنگ‌های ضد فولینگ برای مبارزه با موجودات فولینگ‌کننده توسعه یافتند. با توجه به تأثیرات منفی رنگ‌های سمی ضد فولینگ بر محیط زیست، توسعه رنگ‌های دوستدار محیط زیست به هدفی مهم برای محققان تبدیل شده است، یکی از رویکردهای نوآورانه برای حل این مشکل، استفاده از نانوذرات در تولید رنگ‌های دوستدار محیط زیست می‌باشد. تحقیق حاضر به تحلیل خواص ضد فولینگ نانوذرات اکسید روی در ترکیب رنگ اپوکسی اختصاص دارد.</p> <p><b>مواد و روش‌ها:</b> اثر بخشی ضد فولینگ نانوذرات اکسید روی از طریق آزمایش‌های ضدباکتریایی به مدت ۴۸ ساعت در غلظت‌های ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵ و ۰ میلی‌گرم در لیتر و ضد جلبکی به مدت ۷۲ ساعت در غلظت‌های ۰، ۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ و ۰ (شاهد) میلی‌گرم در لیتر در <i>Amphibalanus</i> و همچنین بررسی اثر سمیت آن بر دو گونه زئوپلانکتون <i>Artemia salina</i> و <i>amphitrite</i> به مدت ۷۲ ساعت در غلظت‌های ۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ و ۰ (شاهد) در آزمایشگاه ارزیابی و ثابت شد. عملکرد ضد فولینگ نانو ذرات اکسید روی با اضافه کردن ۰/۲٪، ۰/۴٪ و ۰/۸٪ وزنی به رنگ رزین اپوکسی روی قطعات فایبرگلاس به مدت ۹۰ روز در قفس پرورش ماهی در محیط دریا ارزیابی شد.</p> <p><b>نتایج:</b> حداقل غلظت بازدارنده نانو ذرات اکسید روی در دو باکتری <i>Staphylococcus aureus</i> و <i>Escherichia coli</i> به ترتیب برابر با ۱۲/۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد. در آزمایش ضد جلبکی نانو ذرات اکسید روی، غلظت مهارکنندگی میانی (IC50) برای جلبک <i>Chaetoceros muelleri</i>، ۸۳/۵۸ میلی‌گرم در لیتر و بیشترین درصد بازدارندگی متوسط رشد ویژه در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر برابر ۸۳/۸۷ درصد تعیین شد. نانوذرات اکسید روی حتی در کمترین غلظت مورد آزمون نیز باعث ایجاد سمیت در ریزجلبک <i>C. muelleri</i> گردیدند. غلظت نیمه‌کشنده (LC50) نانو ذرات برای <i>Amphibalanus</i> و <i>amphitrite</i> به ترتیب ۱۶۲/۶۹ و ۳۹۵/۶۶ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. نتایج نشان داد کمترین وزن قطعات فایبر گلاس در روز ۳۰، ۶۰ و ۹۰ مربوط به تیمار نانو ذرات اکسید روی ۸٪ بود.</p>

که در هر سه دوره با تیمارهای شاهد تفاوت معنی داری نشان داد ( $P < 0.05$ ).

**بحث:** خواص ضد باکتریایی نانو ذرات اکسید روی می تواند به دلیل گونه های فعال اکسیژن، تولید احتمالی رادیکال های آزاد و آزادسازی یون های فلزی باشد. نانو ذرات می توانند وارد دیواره سلولی جلبک شده و باعث آسیب ساختاری شوند که منجر به آزاد شدن محتویات سلولی و در نهایت مرگ سلولی می شود. اثر بخشی ضد فولینگ رنگ با افزایش میزان نانو اکسید روی افزایش یافت. غلظت های بالا از نانوذرات ذرات اکسید روی مقادیر زیادی یون های روی را آزاد می کند. یون روی می تواند از غشای سلولی عبور کرده و گونه های اکسیژن فعال تولید کنند و منجر به آسیب به اجزای سلولی، اختلال در عملکرد سلولی و مرگ سلولی شود. کارایی بالای ضد فولینگ نانو ذرات اکسید روی می تواند یک راهکار مؤثر برای مقابله با فولینگ زیستی دریایی باشد.

بزرگ برای پژوهشگران بوده است (Ananda & Sasikumar, 2014; Cuili *et al.*, 2014).

نانوذرات اکسید روی یکی از موادی است که به علت پتانسیل بالا در دو دهه اخیر بسیار مورد توجه بوده (Reeves *et al.*, 2008) و به عنوان یکی از پرکاربردترین نانوذرات، برای مقابله با طیف وسیعی از باکتری های گرم منفی و گرم مثبت استفاده می شود (Handy *et al.*, 2008). درعین حال، این ترکیب علاوه بر خاصیت ضد باکتریایی، به عنوان یک عامل ضد قارچی نیز کاربرد دارد (Zhang *et al.*, 2010) نانو ذرات اکسید روی دارای ریخت شناسی متنوعی هستند و فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی را در برابر طیف وسیعی از گونه های باکتری نشان داده اند (Buzea *et al.*, 2007; Brayner *et al.*, 2006; Raghupathi *et al.*, 2011; Jones *et al.*, 2008; Lara *et al.*, 2010). پوشش های حاوی نانو ذرات به علت خواص فیزیکی و شیمیایی می توانند از فولینگ زیستی جلوگیری کنند (Callow & Callow, 2011). پوشش های حاوی نانوذرات اکسید فلز رشد میکروارگانیسم ها را از طریق یک فرآیند فوتوکاتالیزستی متوقف می کنند (Yang *et al.*, 2013) این فرآیند بر اساس تولید گونه های فعال اکسیژن<sup>1</sup> (ROS) و آزادسازی یون های سمی فلزی است (Miller *et al.*, 2010). چندین مطالعه گزارش کرده اند که نانوذرات اکسید روی برای سلول های انسانی غیرسمی هستند (Colon *et al.*, 2006). این نانو ذرات به دلیل زیست سازگار بودن، پایداری بسیار بالا، عدم سمیت انسانی دارای کاربردهای متنوعی در صنایع گوناگون هستند (Ohira *et al.*, 2008).

مهم ترین گام آزمایشگاهی در یافتن مواد ضد فولینگ

## مقدمه

فولینگ زیستی به فرآیند چسبیدن و رشد موجودات بر روی سطوح در آب های دریایی اطلاق می شود (Uglen *et al.*, 2014). این پدیده از مشکلات عمده صنایع دریایی (Price & Morris, 2013) مانند صنایع آبی پروری محسوب می شود. سطوح موجود در ساختارهای قفس های پرورش ماهیان دریایی بستر ایده آل برای نشست موجودات فولینگ کننده هستند (Hodson & Burke, 2015; Edwards *et al.*, 1994). فولینگ زیستی سبب ایجاد هزینه های اقتصادی زیادی بر صنایع غوطه ور در آب دریا می شود (Willemsen, 2005; Schultz *et al.*, 2011). بنابراین پوشش های ضد فولینگ برای مبارزه با موجودات فولینگ کننده توسعه یافتند (Fang *et al.*, 2010; Callow *et al.*, 2002; Ralston & Swain, 2009; WHOI, 1952). روش های رایج مورد استفاده برای حفاظت از فولینگ زیستی، استفاده از پوشش های حاوی مواد مخرب زیست محیطی است (Yebara *et al.*, 2004; Delauney *et al.*, 2010; Thomas & Brooks, 2010). این پوشش ها کارایی بالای ضد فولینگ دارند ولی به دلیل اثرات مخرب محیط زیستی محدودیت هایی در استفاده از آنها اعمال شده است (Joshi *et al.*, 2013). زیرا این مواد تأثیرات منفی قابل توجهی بر روی موجودات غیرهدف دارند (Thomas & Brooks, 2010)، رویکرد اساسی این است که از رنگ یا پوششی استفاده شود که اثر مخرب محیط زیستی نداشته باشد (Hodson *et al.*, 2000; Tsibouklis *et al.*, 2000; Webster & Chisholm, 2010). در طول دهه گذشته، توسعه و ساخت رنگ های دریایی غیرسمی و سازگار با محیط زیست یک چالش

<sup>1</sup> Reactive Oxygen Species

جدید، آزمایش‌های ضدباکتریایی (Noor Idora *et al.*, 2015; Suresh *et al.*, 2016)، ضد ریز جلبکی (Suresh *et al.*, 2016) و ضد بارناکل روی ترکیباتی است که به عنوان مواد ضد فولینگ بالقوه مدنظر هستند (Yang *et al.*, 2015). همچنین آزمون آرتیمیا یک روش کاربردی در ارزیابی غربالگری و جداسازی ترکیبات فعال زیستی است و در حدود ۳۰ سال است که از آرتیمیا برای بررسی سمیت‌های کلی و سم‌شناسی محیطی استفاده می‌شود (Costello *et al.*, 1993). در مطالعه حاضر ابتدا فعالیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی بر دو گونه باکتری، مهارکنندگی رشد ریز جلبک و سمیت آن بر دو زئوپلانکتون آرتیمیا و لارو بارناکل در محیط آزمایشگاه بررسی شد و در ادامه با توجه به نتایج بررسی آزمایشگاهی، غلظت نانو اکسید روی در رنگ رزین اپوکسی تعیین شد و برای بررسی عملکرد ضد فولینگ رنگ، قطعات فایبرگلاس با پوشش این رنگ ساخته شد و در محیط دریا مورد ارزیابی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

مشخصات نانوذرات اکسید روی: نانوذرات اکسید روی که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفته‌اند، تولید شرکت US Research Nanomaterials بود که از شرکت البرز شیمی تجهیز خریداری شدند. طبق اطلاعات ارائه شده توسط تولیدکننده، این محصول پودری، دارای ذراتی با میانگین اندازه ۳۵ تا ۴۵ نانومتر بود. برای تبدیل نانوذرات اکسید روی به سوسپانسیون یکنواخت با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، ابتدا یک گرم از نانوذرات پودری وزن‌کشی شد. سپس با افزودن تدریجی آب دوبار تقطیر، حجم آن به ۱۰۰ میلی‌لیتر افزایش یافت. به منظور توزیع یکنواخت ذرات، سوسپانسیون حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه حمام سونیکاتور قرار داده شد و در نهایت حجم آن به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد (Johari *et al.*, 2016).

فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی: برای انجام آزمایشات ضدباکتریایی از دو سویه باکتری شاخص گرم مثبت *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591) و گرم منفی *Escherichia coli* (ATCC 33876) استفاده شد. یک سری ۹ تایی از لوله‌های آزمایش استریل حاوی یک

میلی لیتر محیط کشت مایع مولر هینتون به ترتیب از لوله شماره ۱ تا ۹ با غلظت‌های (میلی‌گرم در لیتر) ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵ و شاهد (فقط محیط کشت) تهیه گردید و برای هر باکتری در سه تکرار انجام شد. باکتری‌هایی که قبلاً کشت مایع داده شده بودند، با غلظت نیم مک فارلند به لوله‌های حاوی محیط کشت و نانو ذرات اکسید روی اضافه شد و به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و پس از آن کدورت لوله‌ها مورد بررسی قرار گرفت. کمترین غلظتی از نانو ذرات اکسید روی که رشد باکتری در آن صورت نگرفت به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی<sup>۲</sup> (MIC) برحسب میلی گرم بر لیتر تعیین شد (CLSI, 2017). و در نهایت جذب نوری هر کدام از تکرارها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (CECIL model: Aquarius CE 7200) در طول موج ۶۰۰ نانومتر سنجیده شد (Khan *et al.*, 2009).

اثر مهارکنندگی نانو ذرات اکسید روی بر رشد ریز جلبک: اثر مهارکنندگی نانو ذرات اکسید روی بر رشد ریز جلبک *Chaetoceros muelleri* در لوله آزمایش (mm16×100) بررسی گردید و هر لوله آزمایش حاوی یک میلی لیتر محیط کشت (f/2 medium) همراه با ریز جلبک با تراکم سلولی  $0.45 \times 10^4$  (سلول/میلی لیتر) بود که در معرض غلظت‌های ۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر و گروه شاهد قرار گرفت. برای محاسبه تراکم، هر ۲۴ ساعت تعداد سلول‌ها با لام هموسیستمتر شمارش گردید و همچنین جذب نوری هر لوله در طول موج ۶۸۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (CECIL model: Aquarius CE 7200) خوانده شد. رشد ریز جلبک در مدت سه روز مورد بررسی قرار گرفت و تمام آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام شد. نرخ رشد ( $\mu$ ) به وسیله رابطه زیر محاسبه شد.

$$\mu = (\ln N_2 - \ln N_1) / (t_2 - t_1) \quad (1)$$

که در آن  $N_1$  و  $N_2$  به ترتیب جذب نوری (OD) در آغاز و پایان فاز رشد ریز جلبک و  $t_2 - t_1$  فاصله زمانی به روز

<sup>2</sup> Minimum Inhibitory Concentration

لاروهای مرده و زنده بررسی و شمارش و غلظت نیمه کشنده (LC50) نانو ذرات اکسید روی برحسب میلی‌گرم بر لیتر محاسبه گردید (Liu et al, 2018).

اثر سمیت نانو ذرات اکسید روی بر ناپلی آرتیمیا: سیستم آرتیمیا *Artemia feransiscana* در ظروف مخروطی در شوری ۳۰ ppt، pH بین ۷/۲-۹، دمای ۲۹-۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در مجاورت نور تخم گشایی شدند. بعد از خروج از تخم، تعداد ۱۵ ناپلی آرتیمیا به پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای کشت سلول که از قبل حاوی ۱ میلی‌لیتر آب دریا بودند اضافه شد و در معرض غلظت‌های ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذرات اکسید روی و گروه شاهد و با سه تکرار برای هر غلظت قرار گرفتند. تعداد مرگ و میر ناپلی آرتیمیا در فاصله زمانی ۷۲ ساعت بعد از قرار گرفتن در مجاورت نانوذره با ذره‌بین شمارش شد (Hisem et al., 2011) برای تعیین درصد مرگ و میر ناپلی‌های آرتیمیا و لارو بارناکل، از رابطه ۳ استفاده شد:

(۳)

$$= 100 \times (\text{تعداد اولیه نمونه زنده}) / (\text{تعداد نمونه مرده}) \text{ مرگ و میر } \%$$

آماده‌سازی پوشش آنتی فولینگ و آزمایش غوطه وری در محیط طبیعی دریا: به منظور تهیه پوشش آنتی فولینگ، از پایه رنگ رزین اپوکسی استفاده شد. برای ساخت رنگ آنتی فولینگ، به نسبت‌های ۸، ۴ و ۲ درصد وزن نهایی رنگ (مجموع وزن رزین اپوکسی و سخت کننده) به رزین اپوکسی، نانو اکسید روی افزوده شد و با هموژنایزر کاملاً مخلوط گردید. سپس از رنگ‌های ساخته شده جهت پوشش قطعات فایبرگلاس با ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی متر، ضخامت یک میلی‌متر و میانگین وزن ۱/۱۹ ± ۱۲/۵۳ گرم استفاده شد (Noor Idora et al., 2015). این مطالعه در ۴ تیمار شامل ۳ تیمار آزمایش (رنگ‌های حاوی ۸، ۴ و ۲ درصد نانو ذرات اکسید روی)، یک تیمار شاهد (قطعات فایبرگلاس با پوشش رزین اپوکسی) و ۳ تکرار انجام شد. قطعات فایبرگلاس روی یک قاب از جنس لوله پلی‌اتیلن نصب شد و جهت بررسی اثر ضد فولینگ به مزرعه پرورش ماهی دریایی (خلیج فارس، جنوب جزیره قشم، 26°50'57" N 56°09'25" E) منتقل و روی قفس با طناب به مدت ۳ ماه (۱۵ اردیبهشت الی ۱۵ مرداد ماه

بین آغاز و پایان آزمایش می‌باشد (Yang et al., 2015). همچنین درصد بازدارندگی متوسط رشد ویژه (Ir) با استفاده از رابطه ۲ به دست آمد که در آن  $\mu c$  مقدار متوسط نرخ رشد ویژه در گروه شاهد و  $\mu t$  مقدار متوسط نرخ رشد ویژه در هر یک از گروه‌های در معرض عصاره‌ها بعد از ۷۲ ساعت است.

$$Ir = (\mu c - \mu t) / \mu c \times 100\% \quad (2)$$

مقادیر غلظت‌های بازدارنده (IC) و غلظت بازدارنده میانی (IC50) نیز بر اساس درصد بازدارندگی متوسط رشد ویژه در غلظت‌های مختلف و با استفاده از نسخه ۱/۵ نرم افزار EPA Probit Analysis منتشر شده توسط سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا محاسبه گردید (OECD, 2011).

اثر سمیت نانو ذرات اکسیدروی بر لارو بارناکل: از بارناکل‌ها به عنوان یک مدل زیستی گسترده و در دسترس، برای ارزیابی فعالیت‌های ضد فولینگ دریایی استفاده می‌کنند (Qiu et al., 2005). بارناکل یکی از مهم‌ترین گونه‌های فولینگ است که به سرعت بر روی سازه‌های ساخته‌ی دست بشر تشکیل کلونی می‌دهد. یکی از مهم‌ترین علل استفاده گسترده این گونه جهت بررسی فعالیت‌های ضد فولینگ این است که به سادگی تحت شرایط آزمایشگاهی نگهداری و پرورش می‌یابد، در تمام طول سال لارو آن در دسترس می‌باشد و استقرار سیپرید آن در آب بر روی سطوح بسترها به سرعت و سادگی انجام می‌شود (Clare & Hoeg, 2008). بیشترین آزمایش‌های زیستی بر لارو بارناکل در مرحله ناپلیوسی و سیپرید انجام می‌شود (Qiu et al., 2005). زیرا ناپلیوس II می‌تواند ۴ تا ۶ روز بدون غذا زنده بماند (Lang & Marcy, 1982). بارناکل بالغ *Amphibalanus amphitrite* به عنوان یکی از غالب‌ترین موجودات فولینگ در زمان بیشینه جزر از ساحل بندرعباس جمع‌آوری شد. جهت بررسی اثر سمیت نانو ذرات بر لارو بارناکل، تعداد ۱۵ عدد ناپلی به پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای کشت سلول که از قبل حاوی یک میلی‌لیتر آب دریا بودند اضافه گردید و در معرض غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۱۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ (میلی‌گرم در لیتر) نانو ذرات اکسیدروی در سه تکرار قرار گرفتند. در فاصله زمانی ۷۲ ساعت تعداد

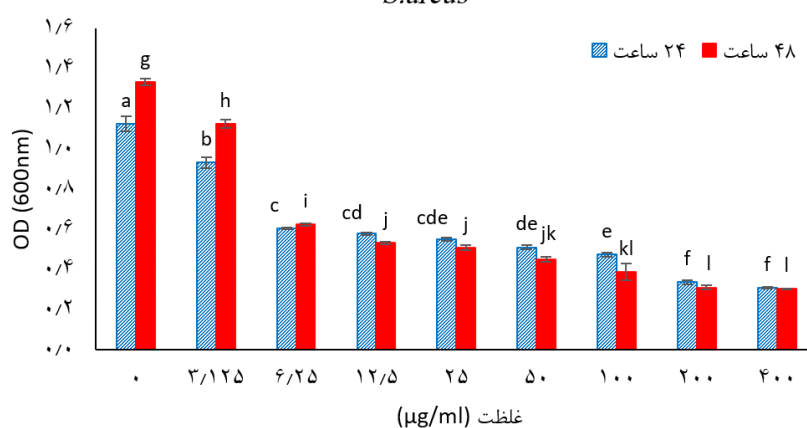
۱۴۰۳) متصل گردید. هر ۳۰ روز پنل ها از آب بیرون آورده شد و پس از وزن کردن مجدداً در آب دریا قرار داده شدند.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات: در این مطالعه داده‌های آماری به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد (SE) بیان شده است. برای ارزیابی اثر ضد باکتریایی و ضد جلبکی نانو ذرات اکسید روی یک طرح کاملاً تصادفی (CRD) اجرا شد. برای ارزیابی سمیت از برنامه پروبیت نسخه ۱/۵ منتشر شده توسط سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا استفاده شد. در این تحقیق ثبت داده و محاسبه میانگین و رسم نمودارها به وسیله نرم افزار اکسل نسخه ۲۱ انجام شد. همچنین برای مقایسه تفاوت آماری تیمارهای مختلف با یکدیگر از آنالیز واریانس یک طرفه به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۲۷ در سطح ۰/۰۵ استفاده شد.

## نتایج

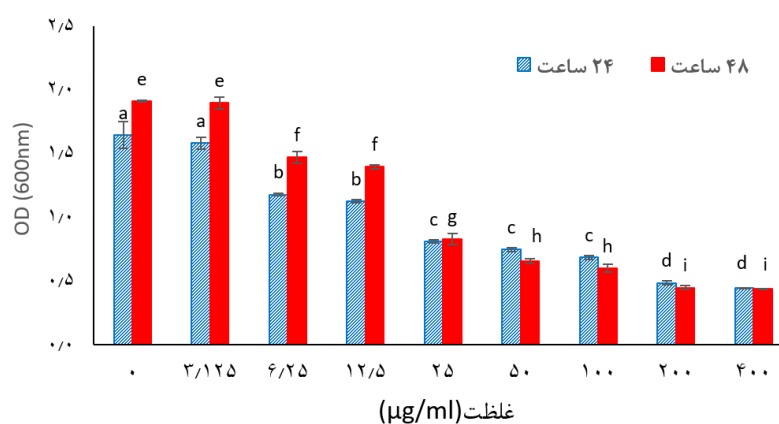
فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی: فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۱ و ۲). نتایج نشان داد که اثر متقابل نانوذرات اکسید روی بر باکتری *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* در غلظت‌های مختلف نسبت به شاهد در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود ( $p \leq 0/05$ ). حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) در باکتری گرم مثبت *S. aureus* برابر با ۱۲/۵ میلی گرم در لیتر و در باکتری گرم منفی *E. coli* برابر با ۵۰ میلی گرم بر لیتر بود.

### *S. aureus*



شکل ۱- فعالیت ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی در برابر *S. aureus* (ستون‌های غیر هم شکل با حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در تیمارها می‌باشد ( $p \leq 0/05$ )).

### *E. coli*



شکل ۲- فعالیت ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی در برابر *E. coli* (ستون‌های غیر هم شکل با حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در تیمارها می‌باشد ( $p \leq 0/05$ )).

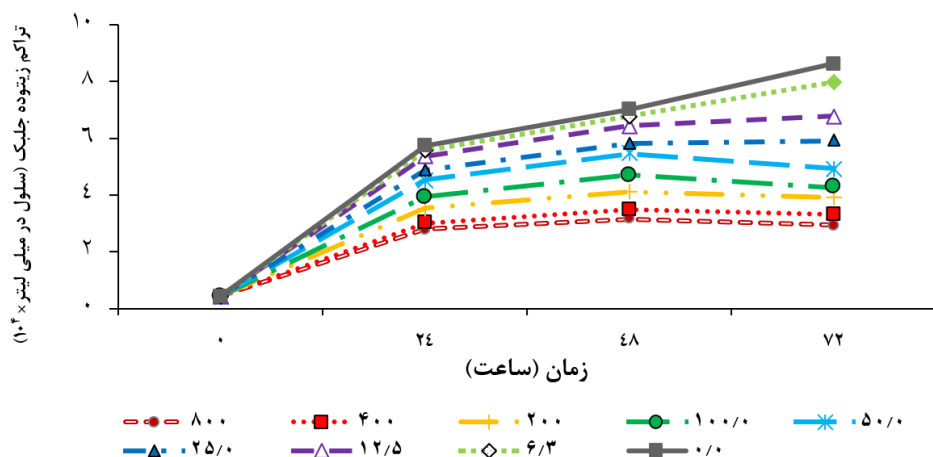
*A. feransiscana* به ترتیب ۲/۲۵ و ۴/۵ میلی گرم در لیتر برآورد شد. کمترین غلظت نیمه کشنده (LC<sub>50</sub>) ۷۲ ساعته نانوذرات اکسید روی در بارناکل *A. amphitriet* و در آرتمیا *A. feransiscana* به ترتیب ۱۶۲/۶۹ و ۳۹۵/۶۶ میلی گرم در لیتر بود.

**فعالیت ضد جلبکی نانوذرات اکسید روی:** شکل ۳ تأثیر غلظت‌های مختلف رویارویی نانوذرات اکسید روی (از ۶/۲۵ تا ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر) را بر جلبک *Chaetoceros muelleri* پس از ۷۲ ساعت نشان می‌دهد. بیشترین میزان تراکم زیست توده بعد از ۷۲ ساعت، در گروه شاهد (۸/۶۳×۱۰<sup>۴</sup> سلول در هر میلی لیتر) بود که بیش از ۱۹/۱۹ برابر نسبت به زمان شروع آزمایش افزایش یافت. در مقابل در گروه‌هایی که در معرض غلظت‌های ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی بودند، افزایش تراکم سلول‌های جلبکی پس از ۷۲ ساعت نسبت به شروع آزمایشات به ترتیب حدود ۱۷/۷۲، ۱۵/۱۰، ۱۳/۱۳، ۱۰/۹۹، ۹/۴۶، ۸/۷۱ و ۷/۳۹ برابر افزایش یافت که نشان دهنده کاهش رشد جلبک *C. muelleri* در رویارویی با نانوذرات است. بیشترین درصد بازدارندگی متوسط رشد ویژه در غلظت ۸۰۰ میلی گرم در لیتر پس از ۷۲ ساعت رویارویی در *C. muelleri* برابر با ۸۳/۸۷ درصد بدست آمد (شکل ۴). بر اساس بررسی داده‌های آزمایشات اولیه و اصلی، بیشترین غلظت فاقد اثر سمیت<sup>۳</sup> (NOEC) برابر با ۱/۵۶ و کمترین غلظت ایجاد کننده سمیت<sup>۴</sup> (LOEC) ۳/۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی برای جلبک *C. Muelleri* به دست آمد. همچنین غلظت بازدارنده میانی (IC<sub>50</sub>) نانو ذرات اکسید روی در جلبک *C. Muelleri* بعد از ۷۲ ساعت، ۸۳/۵۸±۰/۴۰ میلی‌گرم در لیتر برآورد گردید (جدول ۱).

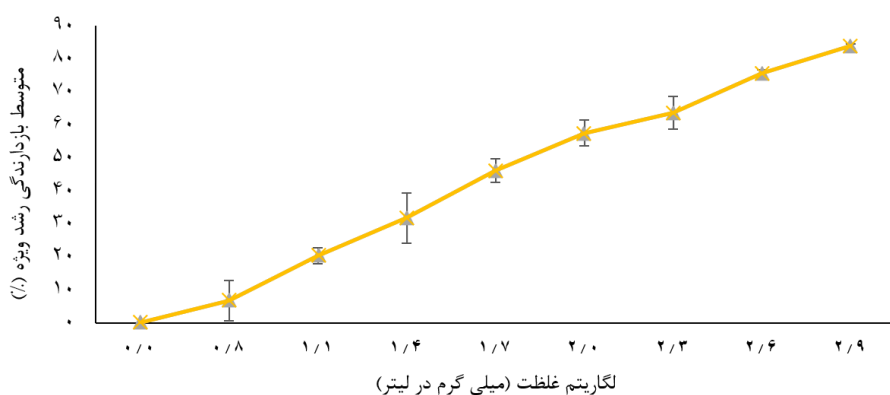
سمیت سلولی نانوذرات اکسید روی بر لارو آرتمیا و بارناکل: نتایج مربوط به مقادیر غلظت‌های کشنده (LC) ۷۲ ساعته و حدود اطمینان مربوط به نانوذرات اکسید روی در بارناکل *Amphibalanus amphitrite* و در آرتمیا *Artemia feransiscana* در جدول ۲ و ۳ نشان داده شده است. بر اساس نتایج درصد تلفات با بالا رفتن غلظت افزایش یافت. با توجه به داده‌های تست‌های ابتدایی و اصلی، مقادیر بیشترین غلظت فاقد اثر سمیت (NOEC) و کمترین غلظت ایجاد کننده سمیت (LOEC) در لارو بارناکل به ترتیب ۱/۵۶ و ۳/۱۲۵ و در لارو ناپلی آرتمیا

<sup>3</sup> No Observed Effect Concentration

<sup>4</sup> Lowest Observed Effect Concentration



شکل ۳- منحنی تغییرات تراکم زیست توده ریز جلبک *C. muelleri* طی ۷۲ ساعت رویارویی با غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی



شکل ۴- درصد بازدارندگی رشد ویژه ریز جلبک *C. muelleri* از پس ۷۲ ساعت رویارویی با غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی

جدول ۱- مقادیر غلظت‌های بازدارنده (IC) ۷۲ ساعته نانوذرات اکسید روی و حدود اطمینان مربوط به هر یک از آن‌ها در ریز جلبک *C. muelleri*

حدود اطمینان (95%) ( میلی گرم در لیتر)		غلظت ( میلی گرم در لیتر)	غلظت بازدارنده
حد بالا	حد پایین		
۱/۱۲	۰/۳۱	۰/۵۹	IC <sub>1</sub>
۴/۸۰	۱/۳۴	۲/۵۴	IC <sub>5</sub>
۱۰/۳۸	۲/۹۰	۵/۴۹	IC <sub>10</sub>
۱۷/۴۸	۴/۸۹	۹/۲۵	IC <sub>15</sub>
۱۵۷/۹۶	۴۴/۲۳	۸۳/۵۸	IC <sub>50</sub>
۱۴۲۷/۲۱	۳۹۹/۶۳	۷۵۵/۲۲	IC <sub>85</sub>
۲۴۰۱/۹۸	۶۲۷/۵۸	۱۲۷۱/۰۴	IC <sub>90</sub>
۵۱۹۵/۸۶	۱۴۵۴/۹۰	۲۷۴۹/۴۵	IC <sub>95</sub>
۲۲۰۹۱/۵۰	۶۱۸۵/۹۰	۱۱۶۸۹/۹۹	IC <sub>99</sub>

جدول ۲- مقادیر غلظت‌های کشنده (LC) ۷۲ ساعته نانوذرات اکسید روی و حدود اطمینان مربوط به هر یک از آن‌ها در لارو بارناکل *A. amphitriet*

حدود اطمینان (۹۵٪) (میلی گرم در لیتر)		غلظت (میلی گرم در لیتر)	غلظت بازدارنده
حد بالا	حد پایین		
۰/۹۹	۰/۱۹	۰/۴۴	IC <sub>1</sub>
۵/۵۹	۱/۱۰	۲/۴۹	IC <sub>5</sub>
۱۴/۰۸	۲/۷۹	۶/۲۷	IC <sub>10</sub>
۲۶/۲۵	۵/۲۰	۱۱/۶۹	IC <sub>15</sub>
۳۶۵/۴۶	۷۲/۴۲	۱۶۲/۶۹	IC <sub>50</sub>
۵۰۸۶/۳۶	۱۰۰۷/۹۸	۲۲۶۴/۲۷	IC <sub>85</sub>
۹۴۸۱/۱۹	۱۸۷۸/۹۱	۴۲۲۰/۷۰	IC <sub>90</sub>
۲۳۸۶۲/۶۵	۴۷۲۸/۹۳	۱۰۶۲۲/۸۴	IC <sub>95</sub>
۱۳۴۷۸۹/۸۲	۲۶۷۱۱/۷۰	۶۰۰۰۳/۸۷	IC <sub>99</sub>

جدول ۳- مقادیر غلظت‌های کشنده (LC) ۷۲ ساعته نانوذرات اکسید روی و حدود اطمینان مربوط به هر یک از آن‌ها در لارو ناپلی آرمیا *A. feransiscana*

حدود اطمینان (۹۵٪) (میلی گرم در لیتر)		غلظت (میلی گرم در لیتر)	غلظت بازدارنده
حد بالا	حد پایین		
۱/۸۵	۰/۳۰	۰/۷۵	IC <sub>1</sub>
۱۱/۶۳	۱/۹۱	۴/۷۱	IC <sub>5</sub>
۳۰/۹۵	۵/۰۸	۱۲/۵۴	IC <sub>10</sub>
۵۹/۸۹	۹/۸۳	۲۴/۲۶	IC <sub>15</sub>
۹۷۶/۶۰	۱۶۰/۳۰	۳۹۵/۶۶	IC <sub>50</sub>
۱۵۹۲۳/۷۲	۲۶۱۳/۷۳	۶۴۵۱/۳۸	IC <sub>85</sub>
۳۰۸۱۴/۹۴	۵۰۵۷/۹۸	۱۲۴۸۴/۴۵	IC <sub>90</sub>
۸۱۹۸۲/۰۰	۱۳۴۵۶/۵۸	۳۳۲۱۴/۴۲	IC <sub>95</sub>
۵۱۳۸۸۶/۸۶	۸۴۳۴۹/۷۷	۲۰۸۱۹۷/۵۹	IC <sub>99</sub>

ذرات اکسید روی در بین تیماری حاوی نانو ذرات اکسید روی بیشترین وزن را داشت و اختلاف معنی‌داری را با تیمارهای حاوی ۰.۴٪ و ۰.۸٪ نانو ذرات اکسید روی نشان دادند ( $P \leq 0.05$ )

نتایج نشان داد با افزایش زمان میزان وزن پنل‌ها افزایش یافت و با افزایش غلظت نانو اکسید روی در پوشش‌ها، عملکرد ضد فولینگ نسبت به گروه شاهد بهبود یافت به‌طوری‌که کمترین زیست‌توده مربوط به تیمار ۰.۸٪ نانو اکسیدروی و بیشترین مربوط به تیمار کنترل بود ( $P \leq 0.05$ ).

ارزیابی غوطه‌وری در آب دریا: در جدول ۴ نتایج اثر ضد فولینگ نانو ذرات اکسید روی بر اساس وزن فولینگ زیستی قرار گرفته روی قطعات فایبر گلاس در محیط دریا به مدت ۳ ماه نشان داده شده است. کمترین وزن در روز ۳۰، ۶۰ و ۹۰ مربوط به تیمار نانو ذرات اکسید روی ۰.۸٪ بود که در هر سه دوره با تیمارهای شاهد تفاوت معنی‌داری نشان داد ( $P \leq 0.05$ ). در روز ۳۰ علیرغم کاهش وزن در تیمارهای با غلظت بیشتر نانو ذرات اکسیدروی، ولی نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌داری نشان ندادند ( $P > 0.05$ ). در روز ۶۰ و ۹۰ تیمارهای حاوی ۰.۲٪ نانو

جدول ۴- مقایسه تغییرات وزن موجودات مزاحم چسبنده در تیمارهای شاهد و رنگ طبیعی ضدچسبندگی زیستی اپوکسی حاوی نانوذرات اکسید روی بعد از قرارگیری در محیط دریا (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد (SE))

مدت زمان غوطه وری	وزن پتل (گرم)			
	۰٪ (شاهد)	۲٪	۴٪	۸٪
روز ۳۰	$25/30 \pm 0/23^a$	$23/28 \pm 0/32^b$	$21/15 \pm 0/51^b$	$18/78 \pm 0/21^b$
روز ۶۰	$27/02 \pm 65/44^a$	$37/98 \pm 1/54^b$	$31/40 \pm 1/31^c$	$25/94 \pm 1/80^c$
روز ۹۰	$85/90 \pm 0/85^a$	$10/86 \pm 16/61^b$	$42/28 \pm 1/02^c$	$36/85 \pm 0/28^c$

حروف متفاوت در هر سطر نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در بین تیمارها است ( $P \leq 0/05$ ).

اکسید روی، خاصیت ضدباکتریایی مؤثری را نسبت به طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها گزارش کرده‌اند (Jones et al., 2008). نانوذرات اکسید روی یکی از موادی است که به علت پتانسیل بالا در کاربردهای مختلف در دو دهه اخیر بسیار مورد توجه بوده (Reeves et al., 2008) و به عنوان یکی از پرکاربردترین نانوذرات، برای مقابله با باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت استفاده می‌شود (Handy et al., 2008). خواص ضد باکتریایی نانو ذرات اکسید روی می‌تواند به دلیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، تولید احتمالی رادیکال‌های آزاد و آزادسازی یون‌های فلزی باشد (Farouk et al., 2014). یون‌های روی ( $Zn^{2+}$ ) هنگام مواجهه نانوذرات با باکتری‌ها آزاد می‌شوند که این یون‌ها می‌توانند وارد غشای سلولی باکتری شوند (López-Miranda et al., 2023). عملکردهای سلولی و فعالیت آنزیم‌ها پس از ورود این یون‌ها به داخل سلول مختل شده و ROS را به وجود می‌آورد. این امر باعث از بین رفتن سلول‌های باکتریایی می‌شود (Chen et al., 2020). یکی از عوامل مهم تأثیرگذار در اتصال بیوفولینگ‌ها، تشکیل لایه‌های باکتریایی بر روی سطوح مختلف است. بنابراین استفاده از مواد با ترکیباتی که ویژگی ضدباکتریایی داشته باشند می‌توانند از خسارت‌های ضد فولینگ جلوگیری کنند (Pérez et al., 2015).

طبق استاندارد شماره ۲۰۱ "سازمان توسعه و همکاری اقتصادی" در آزمون‌های سم‌شناسی حاد بر روی جلبک‌های تک سلولی، تعداد سلول‌ها در گروه شاهد طی ۷۲ ساعت باید حداقل ۱۶ برابر افزایش یابد (OECD, 2011). بر این اساس، افزایش ۱۹/۱۹ برابری زی‌توده‌ی جلبکی در مطالعه حاضر نشان می‌دهد کشت در شرایط

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که نانوذرات اکسیدروی به طور مؤثری باعث مهار رشد باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus* شد و باعث کاهش نرخ رشد جلبک‌های *Chaetoceros muelleri* شد. همچنین اثربخشی نانوذرات اکسید روی در آزمایش سمیت آن بر دو گونه *Artemia salina* و *Amphibalanus amphitrite* به اثبات رسید. ارزیابی غوطه‌وری در محیط طبیعی دریا نشان داد که پتل‌های پوشش داده شده با ۸ درصد وزنی نانوذرات اکسیدروی به‌طور چشمگیری باعث کاهش فولینگ زیستی شد.

## بحث

نتایج بررسی غلظت مهارکننده رشد نانو ذرات اکسید روی بر دو سویه باکتری *S. aureus* (۱۲/۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و *E. coli* (۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در این مطالعه حاکی از اثر مهار کنندگی این نانو ذره بر این دو باکتری می‌باشد.

این یافته‌ها نشان می‌دهد که نانوذرات اکسید روی خواص ضد باکتریایی مؤثری را در برابر هر دو سویه باکتری نشان می‌دهند (Jin et al., 2021; Pasquet et al., 2014). MIC پایین‌تر در باکتری گرم مثبت، نشان‌دهنده اثر ضد باکتری قوی‌تر نانو ذرات اکسید روی علیه *S. aureus* در مقایسه با *E. coli* است. این پدیده ناشی از تفاوت‌های موجود در ترکیب دیواره سلولی است. باکتری‌های گرم مثبت فقط یک لایه دیواره سلولی دارند، در حالی که باکتری‌های گرم منفی دارای ساختار پیچیده‌تری هستند که شامل سه لایه می‌باشد (Shateri-Khalilabad & Yazdanshenas, 2013). در مطالعات متعددی نانوذرات

غربالگری و جداسازی ترکیبات فعال زیستی می باشد و از آرتیمیا جهت بررسی سمیت‌های کلی و سم‌شناسی محیطی استفاده می شود (Costello *et al.*, 1993). نتایج پژوهش حاضر نشان داد مقادیر بیشترین غلظت فاقد اثر سمیت (NOEC) و کمترین غلظت ایجاد کننده سمیت (LOEC) و غلظت نیمه کشنده (LC50) در لارو بارناکل (جدول ۲) به ترتیب ۱/۵۶ و ۳/۱۲۵ و ۱۶۲/۶۹ و در لارو آرتیمیا (جدول ۳) به ترتیب ۲/۲۵ و ۴/۵ و ۳۹۵/۶۶ میلی گرم در لیتر برآورد شد. بنابراین نانواکسید روی اثر سمیت قوی روی لارو بارناکل *A. amphitriet* و لارو ناپلیوس *A. feransiscana* داشته است. پژوهش‌های متعددی همسو با مطالعه حاضر، اثر سمیت نانوذرات اکسید روی بر گونه‌های مختلف آرتیمیا را بررسی کردند و گزارش کردند که میزان مرگ و میر در لارو آرتیمیا با گذشت زمان و افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی، افزایش یافت (Ates *et al.*, 2013; Khoshnood *et al.*, 2017; Sarkheil *et al.*, 2018). آرتیمیا و بارناکل دارای تغذیه میکرو فیلتر فیدر هستند که به آن‌ها امکان می‌دهد ذرات با اندازه های مختلف را به طور انتخابی از آب اطراف خود جذب کنند (Ates *et al.*, 2013). سمیت نانوذرات اکسید روی به میزان غلظت آن‌ها بستگی دارد (Wang *et al.*, 2009). غلظت‌های بالا از نانوذرات اکسید روی مقادیر زیادی یون‌های زینک را آزاد می‌کنند.  $Zn^{2+}$  خارج سلولی می‌تواند از غشای سلولی عبور کرده و به سیتوپلاسم نفوذ کند (Kao *et al.*, 2011).  $Zn^{2+}$  به سرعت می‌تواند به داخل سلول‌ها آزاد شود. (Xia *et al.*, 2008) و گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) تولید می‌کنند. این ROS، از جمله رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن، پتانسیل ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول‌ها را دارند. تولید بیش از حد ROS می‌تواند منجر به آسیب به اجزای سلولی، اختلال در عملکرد سلولی و مرگ سلولی شود (Saleemi *et al.*, 2022). هنگامی که نانوذرات اکسید روی توسط لیزوزوم‌ها جذب می‌شوند، ممکن است به تولید مقادیر زیادی رادیکال‌های آزاد منجر شوند یا به‌طور مستقیم با پروتئین‌های داخل سلولی، لیزوزوم‌ها، شبکه اندوپلاسمی و اسیدهای نوکلئیک تعامل کنند. این فرآیند می‌تواند تعادل زینک درون سلولی را به هم زده، عملکرد آنزیم‌ها را مختل کند، فعالیت طبیعی سلول‌ها را تحت تأثیر قرار دهد و در نهایت به آسیب سلولی منجر شود (Xia *et al.*, 2008).

استاندارد انجام شده است و سلول‌های جلبکی نیز از توانایی کافی برای رشد و تکثیر برخوردار بوده اند. با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، نانوذرات اکسید روی حتی در کم‌ترین غلظت مورد آزمون نیز باعث ایجاد سمیت در ریزجلبک دریایی *C. muelleri* گردیده‌اند. در واقع حضور این نانو ذرات در محیط کشت جلبک مذکور مانع تقسیم سلولی و افزایش عادی تعداد سلول‌ها گردیده است. با افزایش هرچه بیش تر غلظت نانوذرات اکسید روی در محیط کشت، کاهش رشد جلبک‌ها نیز بیش‌تر قابل مشاهده بوده است. که نشان می‌دهد تأثیر این نانوذرات بر ریزجلبک مورد مطالعه وابسته به غلظت است. از طرفی با گذشت زمان، اختلاف رشد جلبک‌های گروه شاهد با گروه‌های تحت تیمار نانوذرات بیشتر قابل مشاهده است. که نشان دهنده‌ی تأثیر وابسته به زمان نانو ذرات اکسید روی بر جلبک است. فعالیت فوتوکاتالیستی نانوذرات اکسید روی به تخریب رنگدانه‌های جلبکی و اجزای سلولی کمک می کند (Dihom *et al.*, 2022; Feizi *et al.*, 2022; Gladis *et al.*, 2010; Sathe *et al.*, 2016). نانوذرات می‌توانند وارد دیواره سلولی جلبک شده و باعث آسیب ساختاری شوند که منجر به آزاد شدن محتویات سلولی و در نهایت مرگ سلولی می‌شود. بازدارندگی رشد نانوذرات می‌تواند به دلیل کاهش میزان کلروفیل باشد، چون کاهش کلروفیل باعث کاهش میزان فتوسنتز و در نهایت باعث کاهش رشد ریزجلبک می‌گردد (Aruoja *et al.*, 2009). در محیط‌هایی با قدرت یونی بالا و pH بالا، مانند آب دریا، حلالیت اکسید روی به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. (Miao *et al.*, 2010; Miller, 2010; Peng *et al.*, 2011; wong *et al.*, 2010). زمانی که سلول‌ها نانوذرات اکسید روی را جذب می‌کنند، این نانوذرات می‌توانند به سرعت حل شده و یون‌های  $Zn^{2+}$  را آزاد کنند (Xia *et al.*, 2008). افزایش سطح  $Zn^{2+}$  درون سلولی می‌تواند عملکرد میتوکندری را مختل کند (Bishop *et al.*, 2007; Wiseman *et al.*, 2007) و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را آغاز کند که در نهایت منجر به مرگ سلولی می‌شود (Xia *et al.*, 2008). مطالعات مشابه با پژوهش حاضر، اثر نانو ذرات اکسید روی را بر کاهش رشد جلبک‌ها گزارش کردند (Suman *et al.*, 2013; Wendt *et al.*, 2015).

آزمون سمیت آرتیمیا یک روش کاربردی در ارزیابی

روی برای ریز جلبک‌ها، مثل دیاتومه‌ها، سمی است (Sunda & Huntsman, 1996; Miller *et al.*, 2017) و دیاتومه‌ها و سایر ریز جلبک‌ها، همراه با باکتری‌ها، اولین گروه‌های کلونی‌کننده روی سطوح هستند و بیوفیلم اولیه روی سطح را ایجاد می‌کنند. چنین بیوفیلم‌هایی شرایط نشست گونه‌های ماکروفولینگ را فراهم می‌کنند (Qian *et al.*, 2004; Dahms *et al.*, 2007). مکانیزم حل شدن ذرات اکسید روی در آب دریا تحت تأثیر اندازه و مورفولوژی ذرات، خواص سطحی اکسید روی و شیمی محیط قرار دارد (Lee & Piron, 1995; Yebra *et al.*, 2010; Zhou & Keller, 2006). پس از غوطه‌وری پوشش‌های حاوی روی در محیط دریا یون  $Zn^{2+}$  از پوشش آزاد شده و وارد محیط می‌شود (Albrecht *et al.*, 2011). تعداد گونه‌های فولینگ دریایی که بر روی پنل‌ها نشست می‌کنند، تحت تأثیر هر دو عامل مدت زمان غوطه‌وری و فصلی که غوطه‌وری در آن انجام شده است می‌باشد (Brown & Swearingen, 1998).

رنگ‌های ضد فولینگ حاوی نانوذرات اکسیدروی نسبت به رنگ‌های ضد فولینگ سنتی مانند رنگ‌های حاوی ترکیبات قلع مانند تری بوتیل تین (TBT) و رنگ‌های حاوی مس سمیت خیلی کمتری برای موجودات غیرهدف در محیط دریا دارند. مزیت اصلی آن‌ها کاهش استفاده از فلزات سنگین و کارایی بالای آن‌ها در غلظت‌های پایین است. نانوذرات اکسید روی در محیط‌های آبی (مانند آب دریا) به مرور تجزیه شده و یون‌های روی آزاد می‌کنند و سمیت آن‌ها کاهش می‌یابد. همچنین این نانوذرات در آب دریا تمایل به تجمع و تشکیل ذرات بزرگتر دارند که ممکن است رسوب کرده و اثرات سمیت را کاهش دهند (OECD, 2019). هرچند سمیت آن‌ها نسبت به ترکیبات سنتی کمتر است، اما پتانسیل ایجاد اثرات منفی بر اکوسیستم‌های دریایی و سلامت انسان را دارند. نانو ذرات اکسید روی در غلظت‌های مشخصی برای موجودات دریایی مانند جلبک‌ها، سختپوستان و ماهی‌ها سمی هستند. این سمیت عمدتاً ناشی از رهائش یون‌های روی ( $Zn^{2+}$ ) و ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول‌ها است (Vimercati *et al.*, 2020; OECD, 2019). بنابراین پیشرفت در فناوری نانو، همراه با تقویت مقررات و استانداردهای ایمنی، می‌تواند این چالش‌ها را کاهش دهد

فولینگ زیستی دریایی به تجمع میکروارگانیسم‌ها، گیاهان، جلبک‌ها و بی‌مهرگان کوچک بر روی سطوحی که در آب غوطه‌ور هستند اشاره دارد (Qian *et al.*, 2003). در طی فرآیند فولینگ زیستی، ابتدا یک لایه بیوفیلم ایجاد می‌شود و یکی از عوامل کلیدی مؤثر بر رشد آن، کیفیت آب تغذیه است که شامل پارامترهایی مانند دما، pH، محتوای اکسیژن محلول (DO) و در دسترس بودن هر دو ماده مغذی آلی و معدنی است. فولینگ دریایی یک فرایند زیستی گسترده است، که دمای نسبتاً بالا آب عامل اولیه‌ای است که دوره‌های تولید مثل و نرخ رشد موجودات فولینگ را افزایش می‌دهد (Abdelsalam *et al.*, 2022). برای دستیابی به سطوحی که در طول دوره‌های طولانی غوطه‌وری عاری از فولینگ زیستی باشند، استفاده از مواد ضد فولینگ مناسب ضروری است (Rascio, 2000). از این رو، کنترل موجودات مزاحم چسبنده بر روی ساختارها جهت کارآمد کردن عملیات نگهداری و کاهش هزینه‌های ناشی از آن‌ها امری ضروری محسوب می‌شود (Hellio *et al.*, 2001). در مطالعه‌ای مشابه اثر رنگ حاوی نانو اکسید روی در محیط دریایی مورد بررسی قرار گرفت و بیان شد که این رنگ‌ها باعث مهار رشد ارگانیسم‌های دریایی نسبت به گروه کنترل گردید و علت این مهار رشد را ناشی از خواص ضدباکتریایی نانوذرات اکسیدروی بیان کرد (Yong *et al.*, 2015). همچنین در پژوهشی هم راستا با مطالعه ما گزارش شده است که پوشش‌های حاوی روی توانستند به‌طور مؤثر باعث مهار گونه‌های مهاجم موجودات فولینگ کننده شوند (Miller *et al.*, 2020). احتمالاً تماس موجودات فولینگ کننده با پوشش‌ها پس از نشست روی سطوح، باعث می‌شود در معرض مستقیم غلظت‌های نسبتاً بالا از مواد فعال موجود در سطح پوشش قرار گیرند. ممکن است این موجودات در مراحل اولیه زندگی نسبت به اثرات سمی پوشش‌ها حساس‌تر باشند و حتی اثرات کم‌کشنده مواد موجود در پوشش‌ها در مراحل اولیه نشست می‌تواند تأثیر زیادی بر کاهش بقا موجودات پس از نشست روی سطوح داشته باشد (Bellas *et al.*, 2005; Contreras *et al.*, 2007; Girling *et al.*, 2015). است فلز روی به‌طور غیرمستقیم باعث مهار فولینگ زیستی شود. به عنوان مثال، مشخص شده است که فلز

3. **Ananda K.S. and Sasikumar A., 2014.** Studies on novel silicone/phosphorus/sulphur containing nano-hybrid epoxy anticorrosive and antifouling coatings. *Progress in Organic Coatings*, 68(3): 189–200.
  4. **Aruoja, V., Dubourguier, H.C., Kasemets, K. and Kahru, A., 2009.** "Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO<sub>2</sub> to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*". *Science of the Total Environment*. 407:1461-1468.
  5. **Ates, M., Daniels, J., Arslan, Z., Farahb, I.O. and Riverac, H.F.E., 2013.** Comparative evaluation of impact of Zn and ZnO nanoparticles on brine shrimp (*Artemia salina*) larvae: effects of particle size and solubility on toxicity. *Environ. Sci. Process. Impact* 15, 225–233.
  6. **Bellas, J., Beiras, R., Mariño-Balsa, J.C. and Fernández, N., 2005.** Toxicity of organic compounds to marine invertebrate embryos and larvae: a comparison between the sea urchin embryogenesis bioassay and alternative test species. *Ecotoxicology* 14:337–353.
  7. **Bishop, G.M., Dringen, R. and Robinson, S.R., 2007.** Zinc stimulates the production of toxic, reactive oxygen species (ROS) and inhibits glutathione reductase in astrocytes. *Free Radic. Biol. Med.* 42, 1222–1230.
  8. **Brayner, R., Ferrari-Iliou, R., Brivois, N., Djediat, S., Benedetti, M.F. and Fievet, F., 2006.** Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. *Nano Lett.* 6(4), 866–870. doi:10.1021/nl052326h.
  9. **Brown, K.M. and Swearingen, D.C., 1998.** Effects of seasonality, length of immersion, locality and predation on an intertidal fouling assemblage in the Northern Gulf of Mexico. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Volume 225, Issue 1. 107-121.
  10. **Buzea, C., Pacheco, I.I. and Robbie, K., 2007.** Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases* 2(4), MR17–MR71. doi:10.1116/1.2815690.
  11. **Callow, J.A. and Callow, M.E., 2011.** Trends in the development of environmentally friendly fouling-resistant marine coatings. *Nat Commun.* 2:244–253.
  12. **Callow, M.E., Jennings, A.R., Brennan, A.B., Seegert, C.E., Gibson, A., Wilson, L., Feinberg, A., Baney, R. and Callow, J.A., 2002.** Microtopographic cues for settlement of zoospores of the green alga *Ulva* sp. (Chlorophyta). *Marine Biology* 141:1011–1020. (OECD, 2019).
- نتایج آزمایش‌های ضد باکتریایی، ضد جلبکی، سمیت آرتمیا و بارناکل و نتایج آزمایش غوطه وری پانل‌های حاوی نانو اکسید روی در محیط دریا اثر بخشی نانو اکسید روی را به عنوان ضد فولینگ ثابت کرد. استفاده از نانو اکسیدروی در رنگ‌های ضد فولینگ دریایی می‌تواند جایگزین مناسب و سازگار با محیط زیست برای رنگ‌های سمی باشد.
- همواره دامنه وسیعی برای کشف کاربردهای جدید نانوذرات اکسیدروی وجود دارد که باید در مطالعات آینده به آن پرداخته شود. از جمله مطالعه در زمینه‌هایی مانند سمیت نانو ذرات اکسید روی و کشف مکانیزم‌های سمیت آن به طور کامل و دقیق، بهینه‌سازی روش‌های سنتز نانو ذرات اکسید روی تا بتوان مقیاس تولید را افزایش داد و نانوذرات اکسیدروی با اندازه کوچک‌تر و شکل مناسب‌تر با کاربرد خاص تولید شود، برای ارزیابی اثرات سمی نانو ذرات اکسیدروی نیاز است که به مطالعات سمیت حاد روی موجودات مختلف پرداخته شود، متابولیسم آن‌ها تعیین گردد و روش‌های انتقال و تجمع نانو ذرات در بدن موجودات مورد مطالعه قرار گیرد.

## تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر در قالب پروژه تحقیقاتی با شماره ۴۰۰۵۶۹۹ با حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) انجام شده است.

## منابع

1. **Abdelsalam, K.M., Shaltout, N.A., Ibrahim, H.A., Tadros, H.R.Z., Aly-Eldeen, M.A. and Beltagy, E.A., 2022.** A comparative study of biosynthesized marine natural-product nanoparticles as antifouling biocides, *Oceanologia*, Volume 64, Issue 1:35-49.
2. **Albrecht, T.W.J., Addai-Mensah, J. and Fornasiero, D., 2011.** Effect of pH, concentration and temperature on copper and zinc hydroxide formation/precipitation in solution. *Chemeca 2011: Engineering a Better World: Sydney Hilton Hotel, NSW, Australia*, 18-21 September 2011:2100.

23. **Farouk, A., Moussa, S., Ulbricht, M., Schollmeyer, E. and Textor, T., 2014.** ZnO-modified hybrid polymers as an antibacterial finish for textiles. *Textile Research Journal* 84, 40-51.
24. **Feizi, S., Kosari-Nasab, M., Divband, B., Mahjouri, S. and Movafeghi, A., 2022.** Comparison of the toxicity of pure and samarium-doped zinc oxide nanoparticles to the green microalga *Chlorella vulgaris*, *Environmental Science and Pollution Research*, 29 : 32002-32015.
25. **Girling, J.A., Thomas, K.V., Brooks, S.J., Smith, D.J., Shahsavari, E. and Ball, A.S., 2015.** A macroalgal germling bioassay to assess biocide concentrations in marine waters. *Mar Pollut Bull* 91:82–86.
26. **Gladis, F., Eggert, A., Karsten, U. and Schumann, R., 2010.** Prevention of biofilm growth on man-made surfaces: evaluation of antialgal activity of two biocides and photocatalytic nanoparticles, *Biofouling*, 26 :89-101.
27. **Handy, R., von der Kammer, F., Lead, J., Hassellöv, M., Owen, R. and Crane, M., 2008.** The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology*. 17(4):287-314 .
28. **Hellio, C., De La Broise, D., Dufossé, L., Le Gal, Y. and Bourgougnon, N., 2001.** Inhibition of marine bacteria by extracts of macroalgae: potential use for environmentally friendly antifouling paints. *Mar Environ Res* 52:231–247.
29. **Hisem, D., Hrouzek, P., Tomek, P., Tomsickova, J., Zapomelova, E., Skacelova, K., Lukesova, A. and Kopecky, J., 2011.** Cyanobacterial cytotoxicity versus toxicity to brine shrimp *Artemia salina*, *Toxicon*. 57(1):76-83.
30. **Hodson, S.L. and Burke, C.M., 1994.** Microfouling of salmon- cage netting: A preliminary investigation. *Biofouling*, 8: 93–105.
31. **Hodson, S.L., Burke, C.M. and Bissett, A.P., 2000.** Biofouling of fish-cage netting: the efficacy of a silicone coating and the effect of netting colour, *Journal of Aquaculture*, 184: 277–290.
32. **Jin, S.-E. and Jin, H.-E., 2021.** Antimicrobial activity of zinc oxide nano/microparticles and their combinations against pathogenic microorganisms for biomedical applications: From physicochemical fouling alga *Enteromorpha*, *Biofouling* 18: 237–245.
13. **Clare, A.S. and Hoeg, J.T., 2008.** *Balanus amphitrite* or *Amphibalanus amphitrite* A note on barnacle nomenclature *Biofouling*, 24: 55-57
14. **CLSI, 2017.** Clinical and Laboratory Standards Institute.
15. **Contreras, L., Medina, M.H., Andrade, S., Oppliger, V. and Correa, J.A., 2007.** Effects of copper on early developmental stages of *Lessonia nigrescens* Bory (Phaeophyceae). *Environ Pollut* 145:75–83.
16. **Costello, M.J., Fretwell, K. and Read, P., 1993.** Toxicity of sewage sludge to *Crangon crangon* and *Artemia salina*, with reference to other marine Crustacea. *Aquatic Living Resources*. 6(4) :351-356.
17. **Cuili, J., Jingjing, Q., Li, M., Ke, F. and Xiao Jian, Z., 2014.** Antifouling activities of anti-histamine compounds against the barnacle *Amphibalanus (=Balanus) amphitrite*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 452: 47–53.
18. **Dahms, H., Dobretsov, S. and Qian, P., 2004.** The effect of bacterial and diatom biofilms on the settlement of the bryozoan *Bugula neritina*. *J Exp Mar Biol Ecol* 313:191–209.
19. **Delauney, L., Compère, C. and Lehaitre, M., 2010.** Biofouling protection for marine environmental sensors. *Ocean Sci*. 6:503–511.
20. **Dihom, H.R., Al-Shaibani, M.M., Mohamed, R.M.S.R., Al-Gheethi, A.A., Sharma, A. and Khamidun, M.H.B., 2022.** Photocatalytic degradation of disperse azo dyes in textile wastewater using green zinc oxide nanoparticles synthesized in plant extract: A critical review, *Journal of Water Process Engineering*, 47 : 102705.
21. **Edwards, C.D., Pawluk, K.A. and Cross, S.F., 2015.** The effectiveness of several commercial antifouling patches containing tetracycline hydrochloride and carvacrol for treatment of local mouth bacterial infections and candidiasis. *Aquaculture Research*, 46: 2225–2235.
22. **Fang, J., Kelarakis, A., Wang, D., Giannelis, E.P., Finlay, J.A., Callow, M.E. and Callow, J.A., 2010.** Fouling release nanostructured coatings based on PDMS-polyurea segmented copolymers. *Polymer* 51: 2636–2642.

- I Algae: An Alternative for a Greener Approach for the Synthesis of ZnO Nanostructures with Biological and Environmental Applications, *Marine Drugs*, 21 : 297.
44. **Miao, A.J., Zhang, X.Y., Luo, Z., Chen, C.S., Chin, W.C. and Santschi, P.H., 2010.** Zinc oxide engineered nanoparticles: dissolution and toxicity to marine phytoplankton. *Environ.Toxicol.Chem.*29, 2814–2822.
  45. **Miller, R., Muller, E., Cole, B., Martin, T., Nisbet, R., Bielmyer-Fraser, G., Jarvis, T., Keller, A., Cherr, G. and Lenihan, H., 2017.** Photosynthetic efficiency predicts toxic effects of metal nanomaterials in phytoplankton. *Aquat Toxicol* 183:85–93.
  46. **Miller, R.J., Adeleye, A.S., Page, H.M., Kui, L., Lenihan, H.S. and Keller, A.A., 2020.** Nano and traditional copper and zinc antifouling coatings: metal release and impact on marine sessile invertebrate communities, *Journal of Nanoparticle Research*, Volume 22, article number 129. 1-15.
  47. **Miller, R.J., Lenihan, H.S., Muller, E.B., Tseng, N., Hanna, S.K. and Keller, A.A., 2010.** Impacts of metal oxide nanoparticles on marine phytoplankton. *Environ Sci Technol.* 44:7329–7334.
  48. **Noor Idora, M.S., Ferry, M., Wan Nik, W.B. and Jasnizat, S., 2015.** Evaluation of tannin from *Rhizophora apiculata* as natural antifouling agents in epoxy paint for marine application. *Organic Coatings*. 81: 125–131.
  49. **OECD, 2011.** OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, France.
  50. **OECD, 2019.** Eco- and Biototoxicity of Zinc Oxide Nanoparticles. Organization for Economic Cooperation and Development iLibrary, Paris, France, Retrieved from <https://www.oecd-ilibrary.org/>
  51. **Ohira, T., Yamamoto, O., Iida, Y. and Nakagawa, Z.E., 2008.** Antibacterial activity of ZnO powder with crystallographic orientation. *J Mater Sci Mater\_Med*; 19(3):1407-12
  52. **Pasquet, J., Chevalier, Y., Couval, E., Bouvier, D., Noizet, G., Morlière, C. and Bolzinger, M.A., 2014.** Antimicrobial activity of zinc oxide particles on five micro-organisms of the Challenge Tests related to their characteristics to pharmacological aspects, *nanomaterials*, 11 , 263.
  33. **Johari, S.A., Nemati, T. and Dekani, L., 2016.** Investigation of the accumulation potential of zinc oxide nanoparticles in *Artemia* and their trophic transfer to zebrafish (*Danio rerio*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 25(1), 21-28.
  34. **Jones, N., Ray, B., Ranjit, K.T. and Manna, A.C., 2008.** Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*. 279(1):71-6.
  35. **Joshi, M., Mukherjee, A., Misra, S.C. and Ramesh, U.S., 2013.** Natural biocides in antifouling paints. *Technical Innovation in Shipbuilding*, 12(13): 1–11.
  36. **Kao, Y.Y., Chen, Y.C., Cheng, T.J., Chiung, Y.M. and Liu, P.S., 2011.** Zinc oxide nanoparticles interfere with zinc ion homeostasis to cause cytotoxicity. *Toxicol. Sci.* 125, 462-472.
  37. **Khan, M.S.A., Zahin, M., Hasan, S., Husain, F.M., Ahmad, I.J.L.i.a.m., 2009.** Inhibition of quorum sensing regulated bacterial functions by plant essential oils with special reference to clove oil. 49, 354-360.
  38. **Khoshnood, R., Jaafarzadeh, N., Jamili, S., Farshchi, P. and Taghavi, L., 2017.** Acute toxicity of TiO<sub>2</sub>, CuO and ZnO nanoparticles in brine shrimp, *Artemia franciscana*. *Iran. J. Fish Sci.* 16 (4), 1287–1296.
  39. **Lang, W.H. and Marcy, M., 1982.** Some effects of early starvation on the survival and development of barnacle nauplii, *Balanus improvisus* (Darwin). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 60: 63–70.
  40. **Lara, H.H., Ayala-Núñez, N.V., Turrent, Ld.Cl. and Padilla, CR., 2010.** Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *World J Microbiol Biotechnol.* 26(4):615-21.
  41. **Lee, H.S. and Piron, D.L., 1995.** Kinetics of alkaline leaching of pure zinc oxide. *Chem Eng Commun* 138:127–143.
  42. **Liu, H., Chen, S.Y., Guo, J.Y., Su, P., Qiu, Y.K., Ke, C.H. and Feng, D.Q., 2018.** Effective natural antifouling compounds from the plant *Nerium oleander* and testing. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 127: 170–177.
  43. **López-Miranda, J.L., Mares-Briones, F., Molina, G.A., González-Reyna, M., Velázquez-Hernández, I., España-Sánchez, B.L., Silva, R., Esparza, R. and Estévez, M., 2023.** *Sargassum natans*

- and oxidative DNA damage in fish cells. *Mutat Res.* 640 (1-2):113-22 .
63. **Saleemi, M.A., Alallam, B., Yong, Y.K. and Lim, V., 2022.** Synthesis of zinc oxide nanoparticles with bioflavonoid rutin: Characterisation, antioxidant and antimicrobial activities and in vivo cytotoxic effects on artemia nauplii, *Antioxidants*, 11 : 1853.
  64. **Sarkheil, M., Johari, S.A., An, H.J., Asghari, S., Park, H.S., Sohn, E.K. and Yu, I.J., 2018.** Acute toxicity, uptake, and elimination of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) using saltwater microcrustacean, *Artemia franciscana*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 57: 181–188.
  65. **Sathe, P., Myint, M.T.Z., Dobretsov, S. and Dutta, J., 2016.** Removal and regrowth inhibition of microalgae using visible light photocatalysis with ZnO nanorods: A green technology, *Separation and Purification Technology*, 162 : 61-67.
  66. **Schultz, M.P., Bendick, J.A., Holm, E.R. and Hertel, W.M., 2011.** Economic impact of biofouling on a naval ship, *Biofouling*, 27: 87-98. Sharaf M, El-Ansari M. and Saleh N., 2000. New flavonoids from *Avicennia marina*. *Fitoterapia* . 71(3): 274-7.
  67. **Shateri-Khalilabad, M. and Yazdanshenas, M.E., 2013.** Bifunctionalization of cotton textiles by ZnO nanostructures: antimicrobial activity and ultraviolet protection, *Textile Research Journal*, 83: 993-1004.
  68. **Suman, T.Y., Radhika Rajasree, S.R. and Kirubakaran, R., 2015.** Evaluation of Zinc oxide nanoparticles toxicity on marine algae *Chlorella vulgaris* through flow cytometric, cytotoxicity and oxidative stress analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 113: 23-30.
  69. **Sunda, W. and Huntsman, S., 1996.** Antagonisms between cadmium and zinc toxicity and manganese limitation in a coastal diatom. *Limnol Oceanogr* 41:373–387.
  70. **Suresh, M., Iyapparaj, P. and Anantharaman, P., 2016.** Antifouling activity of lipidic metabolites derived from *Padina tetrastromatica*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 179(5): 805–818.
  71. **Thomas, K.V. and Brooks, S., 2010.** The environmental fate and effects of antifouling paint biocides. *Biofouling*. 26:73–88.
  53. **Peng, X., Palma, S., Fisher, N.S. and Wong, S.S., 2011.** Effect of morphology of ZnO nanostructures on their toxicity to marine algae. *Aquat. Toxicol.* 102,186–196.
  54. **Pérez, M., García, M. and Blustein, G., 2015.** Evaluation of low copper content antifouling paints containing natural phenolic compounds as bioactive additives. *Marine environmental research* 109, 177-184.
  55. **Price, C.S. and Morris, Jr, J.A., 2013.** *Marine Cage Culture and the Environment: Twenty-first Century Science Informing a Sustainable Industry*. National oceanic and atmospheric administration (NOAA)/NOS/NCCOS. 164:172.
  56. **Qian, P., Lau, S., Dahms, H., Dobretsov, S. and Harder, T., 2007.** Marine biofilms as mediators of colonization by marine macroorganisms: implications for antifouling and aquaculture. *Mar Biotechnol* 9:399–410.
  57. **Qian, P.Y., Thiyagarajan, V., Lau, S.C.K. and Cheung, S.C.K., 2003.** Relationship between bacterial community profile in biofilm and attachment of the acorn barnacle *Balanus amphitrite* . *AQUATIC MICROBIAL ECOLOGY*, Vol. 33: 225–237.
  58. **Qiu, J.W., Thiyagarajan, V., Cheung, S. and Qian, P.Y., 2005.** Toxic effects of copper on larval development of the barnacle *Balanus Amphitrite*, *Marine Pollution Bulletin*, 51: 688–693.
  59. **Raghupathi, K.R., Koodali, R.T. and Manna, A.C., 2011.** Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir* 27(7), 4020–4028. doi:10.1371/journal.pone.0085981.
  60. **Ralston, E. and Swain, G., 2009.** Bioinspiration—the solution for biofouling control? *Bioinspiration & Biomimetics* 4, 015007.
  61. **Rascio, V.J.D., 2000.** ANTIFOULING COATINGS: WHERE DO WE GO FROM HERE. *Corrosion Reviews*, Volume 18 (133-154). doi:10.1515/correv.2000.18.2-3.133.
  62. **Reeves, J.F., Davies, S.J., Dodd, N.J. and Jha, A.N., 2008.** Hydroxyl radicals (OH) are associated with titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticle-induced cytotoxicity

81. **Wong, S.W., Leung, P.T.Y., Djurisić, A.B. and Leung, K.M., 2010.** Toxicities of nano zinc oxide to five marine organisms: influences of aggregate size and ion solubility. *Anal. Bioanal.Chem.*396,609–618.
82. **Xia, T., Kovochich, M., Liong, M., Madler, L., Gilbert, B., Shi, H., Yeh, J.I., Zink, J.I. and Nel, A.E., 2008.** Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties. *ACS Nano* 2,2121–2134.
83. **Yang, C., Sun, W., Liu, S. and Xia, C., 2015.** Comparative effects of indole derivatives as antifouling agents on the growth of two marine diatom species. *Chemistry and Ecology*, 31 (4): 299–307.
84. **Yang, Y., Zhang, C. and Hu, Z., 2013.** Impact of metallic and metal oxide nanoparticles on wastewater treatment and anaerobic digestion. *Environ Sci: Processes & Impacts*. 15: 39–48.
85. **Ye, Q., Chen, W., Huang, H., Tang, Y., Wang, W., Meng, F., Wang, H. and Zheng, Y., 2020.** Iron and zinc ions, potent weapons against multidrug-resistant bacteria, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104 : 5213-5227.
86. **Yebra, D.M., Kiil, S.r. and Dam-Johansen, K., 2004.** Antifouling technology- past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Prog Org Coat.* 50:75–104.
87. **Yebra, D.M., Kiil, S., Weinell, C.E. and Dam-Johansen, K., 2006.** Dissolution rate measurements of sea water soluble pigments for antifouling paints: ZnO. *Prog Org Coat* 56:327–337.
88. **Yong, H.E., Krishnamoorthy, K., Hyun, K.T. and Kim, S.J., 2015.** *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, Volume 29: 39-42.
89. **Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Daskalakis, N., Jeuken, L. and Povey, M., 2010.** Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. Coli*. *J Nanopart Res.* 12(5):1625-36 .
90. **Zhou, D. and Keller, A.A., 2010.** Role of morphology in the aggregation kinetics of ZnO nanoparticles. *Water Res* 44:2948–2956.
72. **Tsibouklis, J., Stone, M., Thorpe, A.A., Graham, P., Nevell, T.G. and Ewen, R.J., 2000.** Inhibiting bacterial adhesion onto surfaces: the non-stick coating approach. *International Journal of Adhesion and Adhesives* 20: 91–96.
73. **Uglem, I., Karlsen, O., Sanchez-Jerez, P. and Saether, B.S., 2014.** Impacts of wild fishes attracted to open-cage salmonid farms in Norway. *Aquaculture Environmental Interaction*, 6, 91–103. <https://doi.org/10.3354/aei00112>.
74. **Vimercati, L., Cavone, D., Caputi, A., De Maria, L., Tria, M. and Prato, E., 2020.** Nanoparticles: An experimental study of zinc nanoparticles toxicity on marine crustaceans. General overview on the health implications in humans. *Frontiers in Public Health*, 8, 192. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00192>
75. **Wang, Y., He, X., Wang, K., Zhang, X. and Tan, W., 2009.** Barbated Skullcup herb extract-mediated biosynthesis of gold nanoparticles and its primary application in electrochemistry. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 73(1): 75-79.
76. **Webster, D.C. and Chisholm, B.J., 2010.** New directions in antifouling technology. In: *Biofouling* (1st edn) (ed.by S. D€urr & J. Thomason), Wiley-Blackwell, Oxford, UK. 366–387.
77. **Wendt, I., Arrhenius, Å., Backhaus, T., Hilvarsson, A., Holm, K., Langford, K., Tunovic, T. and Blanck, H., 2013.** Effects of five antifouling biocides on settlement and growth of zoospores from the marine macroalga *Ulva lactuca* L. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 91:426-432.
78. **WHOI (Woods Hole Oceanographic Institution). 1952.** Marine fouling and its prevention. The Naval Institute Press, USA. 118P.
79. **Willemsen, P.R., 2005.** Biofouling in European aquaculture: is there an easy solution?, *European aquaculture society special publication*,35: 82-87.
80. **Wiseman, D.A., Wells, S.M., Hubbard, M., Welker, J.E. and Black, S.M., 2007.** Alterations in zinc homeostasis underlie endothelial cell death induced by oxidative stress from acute exposure to hydrogen peroxide. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 292, 165–177.





## Evaluation of the Impact of Zinc Oxide Nanoparticles as an Eco-Friendly Antifouling Agent in Epoxy Paint on Marine Fish Cage Culture

Sajedeh Mazarei<sup>1</sup>, Mohsen Safaei<sup>\*1</sup>, Ahmad Homaei<sup>2</sup>, Zahra Ghasemi<sup>1</sup>

<sup>1\*</sup>- Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

<sup>2</sup>- Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

### Original Article

**Received:**  
2025.01.26

**Accepted:**  
2025.03.01

**Keywords:**  
Nanoparticles  
Antifouling  
Anti-Algal  
Antibacterial  
Non-Toxic Paint

### Abstract

**Introduction:** Biofouling refers to the process of attachment and growth of organisms on surfaces in marine waters. This phenomenon is considered one of the major problems in marine industries, such as aquaculture. Therefore, anti fouling coatings have been developed to combat fouling organisms. Considering the negative impacts of toxic antifouling paints on the environment, the development of eco friendly paints has become an important goal for researchers. One innovative approach to address this issue is the use of nanoparticles in the production of ecofriendly paints. The present study is dedicated to analyzing the antifouling properties of zinc oxide nanoparticles in epoxy paint formulations.

**Materials and Methods:** The anti fouling effectiveness of zinc oxide nanoparticles was evaluated through antibacterial tests conducted over 48 hours at concentrations of 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, and 0 (control) mg/L, as well as anti algal tests over 72 hours at concentrations of 800, 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, and 0 (control) mg/L. Additionally, the toxicity effects on two zooplankton species, Amphibalanus amphitrite and Artemia salina, were assessed over 72 hours at concentrations of 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, and 0 (control) mg/L in the laboratory. The minimum inhibitory concentration of zinc oxide nanoparticles against the bacteria Staphylococcus aureus and Escherichia coli was determined to be 12.5 mg/L and 50 mg/L, respectively .

**Results:** In the anti algal test of zinc oxide nanoparticles, the median inhibitory concentration (IC50) for the alga Chaetoceros muelleri was determined to be 83.85 mg/L, and the highest percentage of average inhibition of specific growth at a concentration of 800 mg/L was found to be 83.87%. Zinc oxide nanoparticles have caused toxicity in the microalga C. muelleri even at the lowest tested concentration. The lethal concentration

(LC50) of nanoparticles for *Amphibalanus amphitrite* and *Artemia salina* was obtained as 162.69 mg/L and 395.66 mg/L, respectively. The anti-fouling performance of zinc oxide nanoparticles was evaluated by adding 2%, 4%, and 8% by weight to the epoxy resin paint on fiberglass pieces for 90 days in a fish farming cage in a marine environment. The results showed that the lowest weight of the fiberglass pieces on days 30, 60, and 90 was associated with the treatment of 8% zinc oxide nanoparticles, which exhibited a significant difference compared to the control treatments ( $P \leq 0.05$ ).

**Discussion:** The antibacterial properties of zinc oxide nanoparticles may be attributed to reactive oxygen species (ROS), the potential generation of free radicals, and the release of metal ions. The nanoparticles can penetrate the cell wall of the algae, leading to structural damage that results in the release of cellular contents and ultimately cell death. The anti-fouling effectiveness of the paint increased with the amount of zinc oxide nanoparticles. High concentrations of zinc oxide nanoparticles release significant amounts of zinc ions. Zinc ions can pass through the cell membrane and generate reactive oxygen species, leading to damage to cellular components, disruption of cellular functions, and cell death. The high anti fouling efficacy of zinc oxide nanoparticles could be an effective strategy for combating marine biofouling.