



Original Research Paper

The effect of silver nanoparticles on the toxicity of mercury in *Artemia salina* (Linnaeus, 1758) in simultaneous and individual exposure

Narges Ravantab¹, Zahra Ghasemi^{1*}, Seyed Ali Johari²

¹ Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran

² Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

Key Words

Nanotoxicology
Heavy metal
Mercury
Artemia salina

Abstract

Introduction: The use of nanoparticles in various industries has led to the release of very large amounts of these materials in the environment, and therefore, its spread in nature has increased the likelihood of their impact on organisms. In this study, the simultaneous and separate effects of mercury ions with/without silver nitrate and silver nanoparticles on *Artemia salina* were investigated.

Materials & Methods: For this purpose, *A. salina* was grown in vitro and *A. salina* nauplius was exposed to different concentrations of silver nanoparticles and mercury ions and its mortality rate was evaluated after 24 and 48 hours. The effects of these contaminants on the fatty acid profile of *A. salina* were also evaluated.

Results: *A. salina* losses were reduced by simultaneous exposure of mercury and silver nitrate and simultaneous exposure of mercury and silver nanoparticles due to the mercury uptake by silver nitrate and silver nanoparticles, and the effect of mercury toxicity was reduced and mercury caused fewer losses in simultaneous exposure. Also, in the study of *A. salina* fatty acid profile in comparison with separate mercury treatment, a decrease in SFA fatty acids in the simultaneous exposure of mercury and silver nitrate to the amount of this type of fatty acids in the control was observed. In addition, the amount of MUFA fatty acids in the simultaneous exposure of mercury and silver nitrate was significantly higher than the control ($P < 0.05$).

Conclusion: In conclusion, toxicity effects of mercury on the artemia was reduced in simultaneous exposure to silver ions and nanoparticles compared with the separate exposure, indicating the necessity of paying more attention to the contaminants interactions in aquatic ecosystems and the effects of this interaction on the contaminants bioavailability and toxicity.

* Corresponding Author's email: z.ghasemi@hormozgan.ac.ir

Received: 12 November 2022; Reviewed: 15 December 2022; Revised: 16 February 2023; Accepted: 19 March 2023

(DOI): [10.22034/AEJ.2023.387227.2937](https://doi.org/10.22034/AEJ.2023.387227.2937)

مقاله پژوهشی

تأثیر نانوذرات نقره بر سمیت جیوه در آرتمیا (*Artemia salina* (Linnaeus, 1758) در

مواجهه هم‌زمان و جداگانه

ناهید روان‌تاب^۱، زهرا قاسمی^{۱*}، سیدعلی جوهری^۲^۱ گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران^۲ گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

کلمات کلیدی

نانوسم‌شناسی

فلز سنگین

جیوه

Artemia salina

چکیده

مقدمه: استفاده روزافزون از صنایع مختلف موجب شده است که مقادیر بسیار بالایی از این دسته مواد در محیط پیرامون آزاد شوند و بنابراین گسترش آن در طبیعت احتمال تأثیر آن‌ها بر جانداران را افزایش داده است. در همین راستا اثر مواجهه هم‌زمان و جداگانه نانوذرات نقره، نیترات نقره و یون جیوه بر سخت‌پوست *Artemia salina* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: بدین منظور، سیستم گونه *A. salina* در محیط آزمایشگاهی تفریح شد و ناپلی *A. salina* در معرض غلظت‌های مختلف ۰/۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر یون جیوه به‌طور جداگانه و هم‌چنین با غلظت ثابت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره یا نیترات نقره به‌طور هم‌زمان قرار گرفت و میزان مرگ و میر آن پس از زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت بررسی شد. هم‌چنین اثرات این آلاینده‌ها بر پروفایل اسید چرب *A. salina* مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج: میزان تلفات *A. salina* در رویارویی هم‌زمان جیوه و نیترات نقره و رویارویی هم‌زمان جیوه و نانوذرات نقره به‌دلیل واکنش جیوه با نیترات و نانوذرات نقره، کاهش یافته و اثر سمیت جیوه کم شد. هم‌چنین مقایسه ترکیب اسید چرب *A. salina* در تیمارهای مختلف نشان داد که اسیدهای چرب اشباع در رویارویی های هم‌زمان جیوه با نیترات و نانوذرات نقره نسبت به رویارویی جداگانه جیوه، کاهش یافته است. علاوه بر این، مقدار اسیدهای چرب غیراشباع تک زنجیره در رویارویی هم‌زمان جیوه و نیترات نقره به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از شاهد بود ($P < 0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: در مجموع، اثرات سمیت یون جیوه بر آرتمیا در رویارویی هم‌زمان با نانوذرات و یون نقره نسبت به رویارویی جداگانه کاهش یافت که موید توجه بیش‌تر به پتانسیل برهم‌کنش آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های آبی و اثر این برهم‌کنش بر دسترسی زیستی و سمیت آلاینده‌ها می‌باشد.

مقدمه

می‌رود که می‌تواند نیازهای غذایی گونه‌های مختلف آبی را برآورده نماید. آرتمیا به‌عنوان موجود مدل در ارزیابی سمیت مواد شیمیایی مختلف نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۱). در خصوص مطالعات صورت گرفته پیشین در این زمینه، Mohammadi و همکاران، تعداد ۵۰۰ ناپلی آرتمیا را در معرض غلظت‌های مختلفی از نانوذره نقره قرار دادند. در طول دوره آزمایش میزان رشد و بازماندگی آرتمیا در روزهای ۸، ۱۱، ۱۷، ۲۰، ۲۳ مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاکی از آن بود که با افزایش غلظت نانوذرات نقره و با گذر زمان، میزان بازماندگی و توان تولیدمثلی کاهش یافت. بنابراین به این نتیجه می‌توان رسید که ورود نانوذرات نقره به بوم‌سازگان‌های طبیعی می‌تواند بر چرخه تولیدمثلی *A. urmiana* تاثیر گذاشته و موجب کاهش بازماندگی و توان تولیدمثلی آن شود (۱۲). Wilke و همکاران، اثرات نانوذرات نقره و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم را بر باکتری *E. coli* بررسی نمودند که نتایج بیانگر آن بود که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌توانند در کاهش سمیت نانوذرات نقره و نیز سمیت یون نقره نقش داشته باشند (۱۳). اگرچه مطالعات نادری وجود دارد که اثر هم‌زمان فلزات سنگین و نانوذرات نقره را بر موجودات آب شیرین گزارش می‌دهند (۱۴)، به‌نظر می‌رسد گزارشی در مورد اثرات احتمالی بوم‌ساختی مواجهه هم‌زمان موجودات دریایی در معرض جیوه و نانوذرات نقره به‌عنوان عناصر با سمیت زیاد وجود نداشته باشد. در این راستا، جیوه و نقره در مطالعه حاضر برای شبیه‌سازی شرایط محیطی و ارزیابی چگونگی تأثیر نانوذرات و نیترات نقره بر سمیت جیوه در اکوسیستم‌های دریایی انتخاب شدند. با توجه به مطالعات انجام شده و گسترش روزافزون صنعت و وارد شدن آلاینده‌های مختلف از جمله نانوذرات به بوم‌سازگان‌های آبی و تأثیراتی که بر آبزیان می‌گذارند، بررسی اثر هم‌زمان یون جیوه و نانوذرات و نیترات نقره که از مهم‌ترین نانوذرات تولید شده در صنایع و انتشار یافته در محیط زیست هستند (۱۵) بر آرتمیا به‌عنوان یک مدل مناسب برای مطالعات سم‌شناسی بسیار اهمیت داشته و به‌درک بهتر از کنش‌های متقابل نانومواد و آلاینده‌ها در بوم‌سازگان‌های آب‌شور و چگونگی تأثیرپذیری زیست‌مندان آبی از این اثرات هم‌زمان کمک می‌نماید. همچنین در این پژوهش برای اولین بار سمیت یون جیوه و نیز نانوذرات و نیترات نقره به‌صورت جداگانه و هم‌زمان از دیدگاه توکسیکولوپیدومیک مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تخم‌گشایی *A. salina*: برای کشت آرتمیا طبق روش‌های استاندارد عمل شد. سیستم‌های آرتمیا پس از ضدعفونی تحت شرایط

فن‌آوری نانو با کاهش اندازه مواد در ابعاد ۱ تا ۱۰۰ نانومتر منجر به ایجاد خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی متفاوتی می‌شود که این موضوع کاربردهای جدید و منحصر به فردی را برای نانو مواد امکان‌پذیر می‌سازد (۱). افزایش میزان تولید و استفاده از نانوذرات باعث افزایش میزان ورود آن‌ها به فاضلاب‌ها و بوم‌سازگان‌های پذیرنده و زیستگاه‌های آبی می‌شود. به‌همین جهت اثرات نامطلوب و مضر رهایش مواد محتوی نانوذرات به محیط زیست و اکوسیستم‌های آبی در حال افزایش است (۲). نانوذرات نقره یکی از پر مصرف‌ترین نانو موادی هستند که توسط بشر ساخته می‌شوند و دارای ویژگی‌های ضد میکروبی قوی در برابر عوامل بیماری‌زایی چون باکتری‌ها و ویروس‌ها هستند (۳، ۴). این نانوذرات به‌روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی تولید می‌شوند و می‌توانند در طبیعت به‌صورت تجزیه‌ناپذیر باقی‌مانده و در نهایت آلودگی محیط زیست را موجب شوند. مطالعات بوم‌شناختی و اکولوژیکی مختلف اثرات سمی و زیان‌آور نانوذرات نقره را بر باکتری‌ها، ویروس‌ها، جلبک‌ها، زئوپلانکتون‌های مختلف، ماهی‌ها و دیگر ارگانیسم‌های آبی نشان داده‌اند. در نتیجه، حضور نانوذرات در زیستگاه‌های آبی می‌تواند باعث تأثیر آن‌ها بر آبزیان شود که این اثرات یا به‌شکل مستقیم و از طریق ایجاد سمیت در زیست‌مندان آبی (۵) و یا به‌شکل غیرمستقیم و از طریق اثرگذاری بر سمیت سایر آلاینده‌های شیمیایی موجود در آب می‌باشد (۶). جیوه نیز یکی از خطرناک‌ترین آلاینده‌های زیست‌محیطی است که از طریق فاضلاب‌های صنعتی و پساب صنایع گوناگون وارد زیست‌بوم‌های آبی می‌شود. جیوه در محیط‌های آبی هم به‌شکل معدنی (Hg^{2+} و Hg^0) و هم به‌شکل آلی یا متیل جیوه (CH_3Hg^+) وجود دارد. هر دو شکل آلی (متیل جیوه) و غیرآلی (معدنی) جیوه در آبزیان دارای اثرات سمی حاد و مزمن هستند (۷، ۸). آرتمیایی از انواع مهم سخت‌پوستان زئوپلانکتونی می‌باشد. چرخه زندگی این سخت‌پوست شامل مراحل تخم، لارو، نائوپلیوس، متانائوپلیوس و زوا می‌باشد که مراحل لاروی آن از حساسیت‌های بالایی در مقابل ترکیباتی با اثرات سمیت برخوردار است (۹). از آن‌جا که آرتمیا موجودی فیلتر فیدر بوده و با فیلتر کردن غیرانتخابی از ذرات کم‌تر از ۵۰ میکرومتر تغذیه می‌کند، احتمال جذب فلزات سنگین و نانوذرات در این سخت‌پوست کوچک بالاتر است (۱۰). مهم‌ترین دلیل برای استفاده از آرتمیا به‌عنوان غذای زنده، ارزش غذایی این موجود است که دارای ۶۶ درصد پروتئین و ۱۴ درصد چربی بوده و نیز کلیه اسیدهای آمینه ضروری و اکثر اسیدهای چرب ضروری را نیز دارا می‌باشد. وجود اسیدهای چرب غیراشباع در بافت چربی آرتمیا مهم‌ترین ارزش تغذیه‌ای آن به‌شمار

جیوه و شاهد که بدون هیچ آلاینده‌ای بود در حجم ۳ لیتر (به‌ازای هر یک گرم سیست) و در ۳ تکرار قرار داده شدند. بعد از ۴۸ ساعت تیمار، تمام ناپلی‌های زنده خارج شدند، دو بار با آب دیونیزه شسته شدند، با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و تا تجزیه و تحلیل لپیدی در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگاه‌داری شدند. مقدار ۰/۵ گرم وزن تر ناپلی‌های زنده برای هر تیمار و هم‌چنین شاهد برای آنالیز اسیدچرب استفاده شد. استخراج اسیدچرب براساس روش ترانس استریفیکاسیون مستقیم اسید (۱۶) انجام شد و نمونه‌ها به‌وسیله کروماتوگرافی گازی (GC؛ Varian, CP3800؛ هلند) آنالیز شدند.

تجزیه و تحلیل آماری: جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kolmogrov-smirnov استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و میانگین متغیرهای مورد بررسی در بین تیمارها از آزمون تجزیه‌واریانس یک‌طرفه و برای بررسی وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح اعتماد ۹۵ درصد استفاده گردید.

نتایج

اثرات جیوه بر زنده‌مانی *A. salina* به مدت ۴۸ ساعت: بر اساس شکل ۱ و با توجه به این‌که درصد تلفات آرتمیای برای نمونه شاهد صفر بود بین تیمارهای یون جیوه و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت. هم‌چنین بین غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۰۰۵ میلی‌گرم در لیتر یون جیوه هم تفاوت معنی‌داری در تلفات مشاهده شد و با کاهش غلظت یون جیوه درصد تلفات آرتمیای هم کاهش پیدا کرد. بین غلظت‌های ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ یون جیوه تفاوت معنی‌داری در تلفات مشاهده نشد.

اثرات رویارویی هم‌زمان جیوه و نیترات نقره بر زنده‌مانی *A. salina* به مدت ۴۸ ساعت: در شکل ۲ و با توجه به صفر بودن درصد تلفات آرتمیای در نمونه شاهد، بین تیمارهای یون جیوه و نیترات نقره با شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بین غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۰۰۱ یون جیوه و نیترات نقره نیز تفاوت معنی‌داری در تلفات مشاهده شد. مقایسه تأثیر هم‌زمان یون جیوه و نیترات نقره به گونه‌ای است که میزان سمیت در رویارویی هم‌زمان کم‌تر از زمانی است که آرتمیای فقط در معرض جیوه بوده است (شکل ۱ و ۲). در غلظت‌های ۰/۰۰۵ و ۰/۰۰۰۱ تفاوت معنی‌داری در تلفات مشاهده نشد.

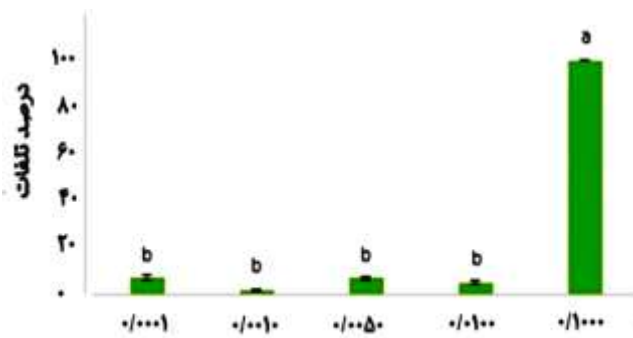
استاندارد آب شور ۳۵ میلی‌گرم در لیتر، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، نور ۲۰۰۰ لوکس و هوادهی مناسب به ظروف مخروطی منتقل شدند و به کمک پمپ‌ها و لوله‌های هوادهی از ته ظروف هوادهی گردیدند. سیست‌های *A. salina* بعد از ۱۸ الی ۲۴ ساعت تفریح شدند.

آماده‌سازی مواد برای انجام تست سمیت در رویارویی جداگانه با ناپلی *A. salina*: محلول ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره، نیترات نقره و جیوه با اضافه کردن ۱۰۰ میلی‌لیتر آب با شوری ۳۵ میلی‌گرم در لیتر تهیه شد. سپس به‌منظور تهیه محلول‌هایی همگن، محلول‌های نانوذرات نقره، نیترات نقره و جیوه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد درون دستگاه التراسونیک قرار داده شدند و بعد از خارج کردن از التراسونیک محلول‌هایی با غلظت‌های مورد نظر (۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱) به حجم ۸۰ میلی‌لیتر در ۳ تکرار آماده گردید (ISO/TS 20787).

آماده‌سازی مواد برای انجام تست سمیت در رویارویی هم‌زمان با ناپلی *A. salina*: غلظت‌های مورد نظر نانوذرات نقره، نیترات نقره و جیوه متناسب با جرم ملکولی آن‌ها تهیه شد و برای همگن شدن محلول‌ها، درون دستگاه التراسونیک قرار داده شدند و بعد از ۳۰ دقیقه محلول‌های همگن شده خارج شد و غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ جیوه+ غلظت ثابت ۰/۱ نانو ذرات نقره و غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ کلرید جیوه+ غلظت ثابت ۰/۱ نیترات نقره به حجم ۸۰ میلی‌لیتر در ۳ تکرار تهیه شد (ISO/TS 20787).

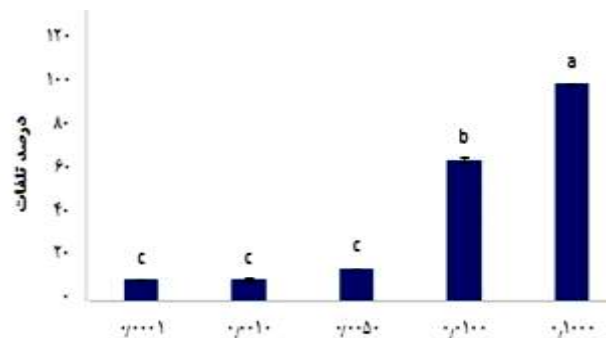
انجام آزمون عدم تحرک و بررسی درصد تلفات *A. salina*: بعد از گذشت ۲۴ ساعت که سیست‌ها تبدیل به ناپلی‌های مرحله اینستار I شدند برای آزمون‌های سمیت، ۲۰ عدد ناپلی در معرض غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره، نیترات نقره و جیوه در حالت‌های مختلف رویارویی جداگانه (به مدت ۴۸ ساعت) و رویارویی هم‌زمان (به مدت ۴۸ ساعت) در محیط تاریک با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و بدون غذادهی قرار داده شدند و هر ۲۴ ساعت یکبار تلفات ناپلی‌ها طی زمان مورد بررسی، ارزیابی گردید و براساس شمارش تعداد ناپلی‌های غیرمتحرک، درصد تلفات یا به عبارتی درصد عدم تحرک محاسبه و غلظت مؤثرمیانی (EC50) تعیین گردید (ISO/TS 20787).

بررسی ترکیب اسیدهای چرب *A. salina*: برای آنالیز اسید چرب *A. salina*، مقدار ۶۰ گرم سیست به انکوباتور انتقال داده شد و بعد از ۲۴ ساعت که سیست‌ها تفریح شدند، ناپلی‌ها در معرض رویارویی هم‌زمان غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره+ ۰/۰۰۵ میلی‌گرم در لیتر جیوه و غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نیترات نقره + ۰/۰۰۵ میلی‌گرم در لیتر جیوه، غلظت ۰/۰۰۵ میلی‌گرم در لیتر



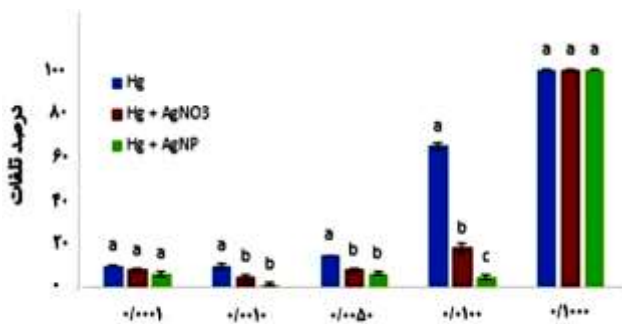
غلظت‌های مختلف کلرید جیوه و غلظت ثابت نانوذرات نقره (میلی گرم در لیتر)

شکل ۳: تلفات *A. salina* در معرض Hg+AgNP به مدت ۴۸ ساعت حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P < 0.05$)



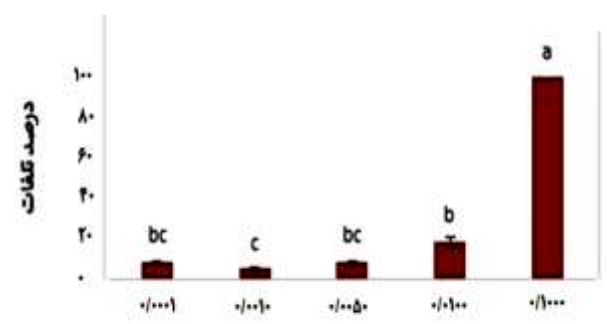
کلرید جیوه (میلی گرم در لیتر)

شکل ۱: تلفات *A. salina* در معرض Hg به مدت ۴۸ ساعت حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P < 0.05$)



غلظت تیمارهای مختلف (میلی گرم در لیتر)

شکل ۴: مقایسه تلفات *A. salina* در غلظت‌های مشابه Hg بین تیمارهای مختلف حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P < 0.05$)



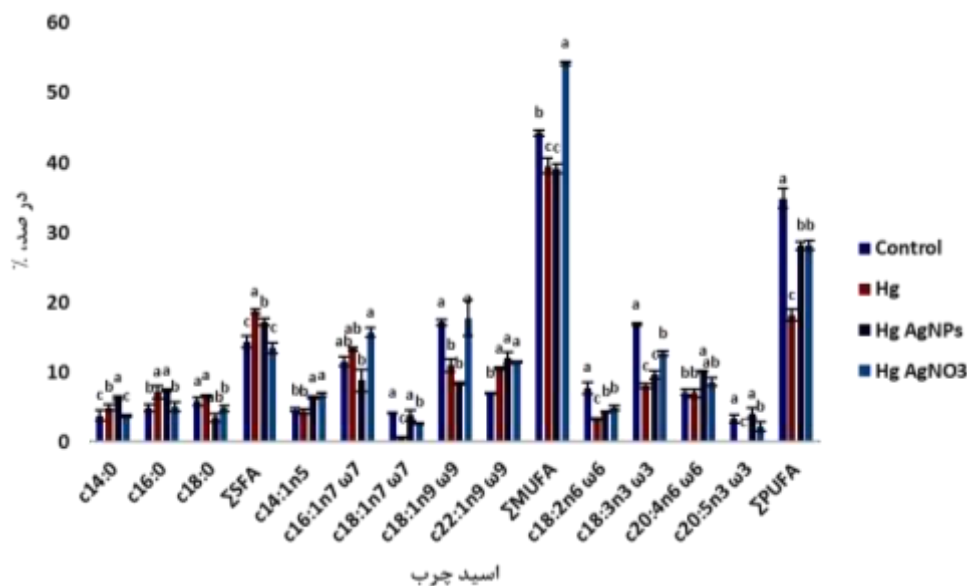
غلظت‌های مختلف کلرید جیوه و غلظت ثابت نیترات نقره (میلی گرم در لیتر)

شکل ۲: تلفات *A. salina* در معرض Hg+AgNO3 به مدت ۴۸ ساعت حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P < 0.05$)

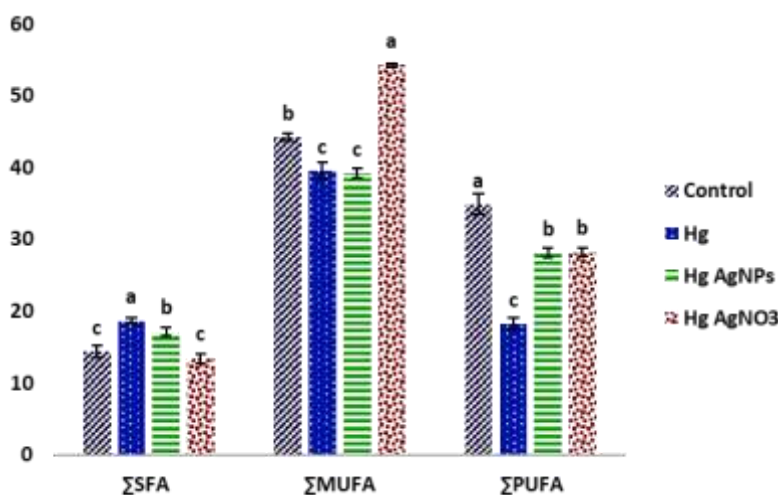
اثرات رویارویی هم‌زمان جیوه و نانوقره بر زنده‌مانی

A. salina به مدت ۴۸ ساعت: براساس شکل ۳ و با توجه به این‌که درصد تلفات آرتمیا برای نمونه شاهد صفر بوده است مشاهده شد که بین تیمارهای یون جیوه و نانوذرات نقره با شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت. هم‌چنین بین کلرید جیوه با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۰۱ و نانوذرات نقره هم تفاوت معنی‌داری در تلفات مشاهده شد. مقایسه تأثیر هم‌زمان یون جیوه و نانوذرات نقره نشان می‌دهد که میزان سمیت در رویارویی هم‌زمان کم‌تر از زمانی است که آرتمیا فقط در معرض جیوه بوده است (شکل ۱ و ۳). علت این مساله این است که جیوه در رویارویی هم‌زمان از دسترسی زیستی آرتمیا خارج شده و بنابراین تفاوت معنی‌داری روی سمیت جیوه گذاشته و باعث کاهش سمیت شده است. بین غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ تفاوت معنی‌داری در تلفات مشاهده نشد. شکل ۴ مقایسه تلفات *A. salina* را در معرض تیمارهای مختلف به مدت ۴۸ ساعت نشان می‌دهد.

پروفایل اسیدهای چرب: نتایج بررسی درصد اسیدهای چرب در شکل‌های ۵ و ۶ ارائه شده است. میزان اسیدهای چرب اشباع در تیمار جداگانه جیوه و تیمار هم‌زمان جیوه و نانوذرات نقره در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$), در حالی که در تیمار هم‌زمان جیوه و نیترات نقره اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در تمام تیمارهای آزمایشی از لحاظ اسیدهای چرب غیراشباع با یک زنجیره (MUFA) و اسیدهای چرب غیراشباع چندزنجیره (PUFA) اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$). میزان اسیدهای چرب اشباع در تیمار جیوه > جیوه و نانوذرات نقره > جیوه و نیترات نقره \approx شاهد، میزان MUFA در تیمار جیوه و نیترات نقره > شاهد > جیوه و نانوذرات نقره و میزان PUFA در تیمار شاهد > جیوه و نیترات نقره \approx جیوه و نانوذرات نقره > جیوه بود.



شکل ۵: اثر تیمارهای مختلف در مقایسه با گروه شاهد بر میزان اسیدهای چرب *A. salina* (برحسب درصد کل اسیدهای چرب) حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P < 0.05$)



شکل ۶: اثر تیمارهای مختلف در مقایسه با گروه شاهد بر میزان اسیدهای چرب اشباع شده (SFA)، اسیدهای چرب غیراشباع با یک زنجیره (MUFA) و اسیدهای چرب غیراشباع چند زنجیره (PUFA) *A. salina* (برحسب درصد کل اسیدهای چرب) حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P < 0.05$)

است که آرتیمیا فقط در معرض جیوه بوده است. نتایج به‌طور واضح کاهش معنی‌دار تلفات *A. salina* را در تیمار هم‌زمان جیوه و نیترات نقره در مقایسه با تیمار جداگانه جیوه به مدت ۴۸ ساعت نشان می‌دهد. این گونه می‌توان استنباط نمود که یون‌های حاصل از نیترات نقره با جذب جیوه موجب کاهش دسترسی جیوه برای آرتیمیا و کاهش اثر سمیت آن شده‌اند. غلظت موثر میانی در رویارویی جیوه به‌طور جداگانه (EC50) برابر با ۰/۰۰۹ میلی‌گرم در لیتر بود و در غلظت

بحث

براساس نتایج و با توجه به صفر بودن درصد تلفات آرتیمیا در نمونه‌شاهد، بین تمام تیمارهای یون جیوه و شاهد و همچنین تیمارهای رویارویی هم‌زمان یون جیوه و نیترات نقره با شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت. مقایسه تأثیر هم‌زمان یون جیوه و نیترات نقره نشان داد که میزان سمیت در تیمارهای رویارویی هم‌زمان کم‌تر از زمانی

اثر سمیت افزایش یافته از کاهش ۹۶ ساعته LC50 ترکیبات نانو ذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم مشخص شد (۶). از آنجایی که انتشار یون‌های نقره از نانوذرات نقره با جذب آن‌ها روی سطح نانوذرات دی اکسید تیتانیوم کاهش می‌یابد، تجمع زیستی نقره در آبشش در مواجهه هم‌زمان با نانوذرات در مقایسه با حالت فردی کاهش می‌یابد. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به‌عنوان حامل، جذب نقره توسط ماهی کپور را تسهیل کرده و باعث افزایش تجمع زیستی نانوذرات نقره در روده و بافت‌های کبد به‌دنبال دفع نقره از تجمع‌های AgNPs+ TiO₂NPs ایجاد شده می‌شوند. بنابراین نانوذرات دی اکسید تیتانیوم تا حدودی اثرات نانوذرات نقره بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را کاهش می‌دهند. یافته‌های ما تأکید می‌کند که فعل و انفعالات پیچیده بین نانوذرات‌های موجود در محیط‌های آبی ممکن است فراهمی زیستی و سمیت آن‌ها برای موجودات را تغییر بدهد. لیپیدها و اسیدهای چرب سازنده آن‌ها در بافت‌های مختلف از نظر سم‌شناسی قابل توجه هستند چون تصویری از متابولیسم لیپید پس از قرار گرفتن در معرض مواد زنبوبیوتیک را نشان می‌دهند (۲۱). از آنجایی که لیپیدها به تنش‌های غیرزیستی و محیطی مختلف بسیار حساس هستند، تولید ROS توسط آلاینده‌ها به‌ویژه فلزات، می‌تواند درجه اشباع اسیدچرب را افزایش دهد (۲۲). فلزات سنگین موجب پراکسیداسیون لیپید شده و اسیدهای چرب برای فرآیندهای سم‌زدایی وارد عمل می‌شوند. بنابراین، ترکیب اسید چرب پس از قرار گرفتن در معرض جیوه و تیمارهای هم‌زمان مطالعه شده در این تحقیق تغییر یافت. نتایج نشان می‌دهد رویارویی هم‌زمان یون نقره با جیوه موجب کاهش معنی‌دار اسیدهای چرب اشباع در مقایسه با تیمار جداگانه جیوه و تیمار هم‌زمان نانوذرات نقره با جیوه گردید. مقدار و ترکیب اسیدهای چرب اشباع در رویارویی هم‌زمان یون نقره با جیوه تقریباً مشابه مقادیر و ترکیب آن‌ها در تیمار شاهد بود. هم‌چنین نتایج بیانگر افزایش اسیدهای چرب MUFA در رویارویی هم‌زمان جیوه و نیترات نقره بود و این مقدار به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از شاهد به‌دست آمد. یکی از مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی با ارزش غذایی بالا در آرتمیا، اسیدهای چرب غیراشباع هستند. ارزش غذایی آرتمیا علاوه بر پروتئین، چربی و قند، اسیدهای چرب موجود در آن می‌باشد. نسبت اسیدهای چرب اشباع نشده به اسیدهای چرب اشباع شده شاخص مهمی در تعیین کیفیت چربی آبزیان است به‌طوری‌که ماهیان دارای کیفیت چربی مناسب عموماً دارای اسیدهای چرب اشباع شده کم‌تری هستند (۲۳). در مطالعه حاضر به‌نظر می‌رسد برهم‌کنش یون نقره و جیوه در محیط آبی موجب تشکیل آمالگام جامد در محیط آبی و ته‌نشین شدن آن (۱۷) موجب کاهش دسترسی زیستی جیوه در محیط و کاهش اثر سمیت آن بر *A. salina* شد. این مساله در بررسی ترکیب

۰/۰۰۵ میلی‌گرم در لیتر ده درصد تلفات (EC10) و در غلظت ۰/۰۱۵ میلی‌گرم در لیتر نود درصد تلفات (EC90) مشاهده شد. این غلظت‌ها در تیمار رویارویی هم‌زمان یون جیوه و نیترات نقره به‌ترتیب برای EC50، EC10، EC90 معادل ۰/۰۱۸، ۰/۰۰۹ و ۰/۰۳۶ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد که به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. میل ترکیب بالای یون نقره و جیوه در محیط آبی موجب برهم‌کنش آن‌ها با هم و تشکیل آمالگام جامد در محیط آبی و ته‌نشین شدن آن می‌گردد (۱۷). این مساله موجب کاهش دسترسی زیستی جیوه در محیط و کاهش اثر سمیت آن بر *A. salina* شد. در مطالعه دیگری Johari بیان داشت حضور یون نقره (Ag⁺) در آب منجر به کاهش ۳۰ درصدی انباشت زیستی متیل جیوه در ماهی دانیو گورخری می‌شود. نتایج نشان داد که کاهش سمیت حاد جیوه معدنی در ماهی دانیو گورخری به‌دلیل حضور نانوذرات نقره است که احتمالاً دلیل آن یا جذب سطحی یون‌های جیوه بر روی نانوذرات نقره یا تشکیل آمالگام بین نقره و جیوه می‌باشد که هر دو این فرآیندها دسترسی زیستی جیوه را برای ماهی کاهش می‌دهد (۱۸). در همین رابطه، تشکیل ترکیب Ag₃Hg₂ بر اثر واکنش بین نانوذرات نقره و یون جیوه قبلاً گزارش شده است (۱۹). براساس نتایج، درصد تلفات آرتمیا برای نمونه شاهد صفر است و بین تمام تیمارهای جیوه و شاهد و هم‌چنین تمام تیمارهای هم‌زمان جیوه و نانوذرات نقره با شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. اگرچه به‌طور کلی، میزان تلفات آرتمیا با افزایش غلظت جیوه در هر دو نوع تیمار کاهش یافت، اما میزان تلفات به‌طور معنی‌داری در تیمار هم‌زمان جیوه و نانوذرات نقره کم‌تر بود. شکل ۴ به‌طور واضح کاهش معنی‌دار تلفات *A. salina* را در تیمار هم‌زمان جیوه و نانوذرات نقره در مقایسه با تیمار جداگانه جیوه به‌مدت ۴۸ ساعت نشان می‌دهد. علت این کاهش اثر بر تلفات را می‌توان به کاهش دسترسی زیستی جیوه برای آرتمیا ارتباط داد. نانونقره اثر معنی‌داری روی سمیت جیوه گذاشته و موجب کاهش سمیت آن در حالت ترکیبی شده است. میل ترکیب بالای یون‌های نقره و جیوه موجب برهم‌کنش آن‌ها بر همدیگر شده که موجب جذب جیوه و کاهش دسترسی زیستی آن می‌شود و در نهایت کاهش اثر سمیت آن بر *A. salina* را به‌دنبال داشت. در پژوهشی که اثر رویارویی هم‌زمان نانوذرات نقره و جیوه بر آسیب‌شناسی بافتی ماهی گورخری بررسی شد مشاهده گردید که حضور نانوذرات نقره می‌تواند سمیت یون جیوه را در این ماهی کاهش دهد. در رویارویی جداگانه، آسیب‌های بافتی مشاهده شده در آبشش ماهی بیش‌تر از رویارویی هم‌زمان بود (۲۰). هم‌چنین در مطالعه دیگری Haghghat و همکاران نتیجه‌گیری کردند که سمیت نانوذرات نقره و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در ماهی کپور معمولی با قرار گرفتن هم‌زمان در معرض آن‌ها افزایش یافت. این

- nano silver in *Aphanius dispar*. Journal of Aquatic Ecology. 4(4): 110-115. (In Persian)
6. **Haghighat, F., Kim, Y., Sourinejad, I., Yu, I.J. and Johari, S. A., 2021.** Titanium dioxide nanoparticles affect the toxicity of silver nanoparticles in common carp (*Cyprinus carpio*). Chemosphere. 262: 127805.
 7. **Boening, D.W., 2000.** Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. Chemosphere. 40: 1335-1351.
 8. **Pourkhabbaz, H.R., Yousofnia, H., Javanmardi, S. and Cheraghi, M., 2022.** Using of black kite (*Milvus migrans*) as a biological indicator of heavy metals in landfills (Case study: the northern of Iran). Journal of Animal Environment. DOI: 10.22034/AEJ.2021.258300. 2411. (In Persian)
 9. **Lu, J., Tian, S., Lv, X., Chen, Z., Chen, B., Zhu, X. and Cai, Z., 2018.** TiO₂ nanoparticles in the marine environment: Impact on the toxicity of phenanthrene and Cd²⁺ to marine zooplankton *Artemia salina*. Science of the Total Environment. 615: 375-380.
 10. **Ates, M., Danabas, D., Ertit Tastan, B., Unal, I., Canan Cicek Cimen, I., Aksu, O., Kutlu, B. and Arslan, Z., 2019.** Assessment of Oxidative Stress on *Artemia salina* and *Daphnia magna* After Exposure to Zn and ZnO Nanoparticles. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 104: 206-214.
 11. **Asadi Dokht Lish, R., Johari, S.A., Sarkheil, M. and Yu, I.J., 2019.** On how environmental and experimental conditions affect the results of aquatic nanotoxicology on brine shrimp (*Artemia salina*): A case of silver nanoparticles toxicity. Environmental Pollution. 255(3): 113358.
 12. **Mohammadi, S., Sarvi Moghanlou, K., Atashbar, B. and Imani, A., 2016.** Studying the chronic effects of silver nanoparticles on survival, growth rate and reproductive traits of Urmia Lake *Artemia (Artemia urmiana)*. Iranian Scientific Fisheries Journal. 25(4): 63-75. (In Persian)
 13. **Wilke, C.M., Tong T., Gillard, J.F. and Gray, K.A., 2016.** Attenuation of microbial Stress due to n-Ag and n-TiO₂ Interactions under dark conditions. Environmental Science and Technology. 50(20): 11302-11310.
 14. **Esmailbeigi, M., Behzadi Tayemeh, M., Johari, S.A., Ghorbani, F., Sourinejad, I. and Yu, I.J., 2022.** In silico modeling of the antagonistic effect of mercuric chloride and silver nanoparticles on the mortality rate of zebrafish (*Danio rerio*) based on response surface methodology. Environmental Science and Pollution Research. 29(36): 54733-54744.
 15. **Kahru, A. and Dubourguier, H.C., 2010.** From ecotoxicology to nanoecotoxicology. Toxicology. 269(2): 105-119.

اسیدچرب *A. salina* با کاهش اسیدهای چرب اشباع در رویارویی هم‌زمان جیوه و نیترات نقره تا مقدار این نوع اسیدهای چرب در شاهد، در مقایسه با تیمار جداگانه جیوه و تیمار هم‌زمان نانوذرات نقره با جیوه تایید شد. علاوه بر این، مقدار اسیدهای چرب MUFA در رویارویی هم‌زمان جیوه و نیترات نقره به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از شاهد بود. به‌طور کلی با توجه به نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر، جیوه غیر آلی دارای اثرات سمی بر *A. salina* است و موجب تغییر در ترکیب اسید چرب آن می‌گردد. میزان تلفات *A. salina* با رویارویی هم‌زمان جیوه و نیترات نقره و رویارویی هم‌زمان جیوه و نانوذرات نقره به‌دلیل جذب جیوه توسط نیترات نقره و نانوذرات نقره، کم‌تر شده و اثر سمیت جیوه کم شده است. بنابراین جیوه به میزان کم‌تری موجب تلفات در رویارویی هم‌زمان شده و از تلفات بالای آن‌ها در غلظت‌های پایین کم می‌کند. هم‌چنین در بررسی ترکیب اسیدچرب *A. salina* در مقایسه با تیمار جداگانه جیوه، کاهش اسیدهای چرب اشباع در رویارویی هم‌زمان جیوه و نیترات نقره تا مقدار این نوع اسیدهای چرب در تیمار شاهد مشاهده شد. علاوه بر این، مقدار اسیدهای چرب MUFA در رویارویی هم‌زمان جیوه و نیترات نقره به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از شاهد بود. در جمع‌بندی، اثرات سمیت یون جیوه بر آرتمیا در رویارویی هم‌زمان با نانوذرات و یون نقره نسبت به رویارویی جداگانه کاهش یافت که موید توجه بیش‌تر به پتانسیل برهمکنش آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های آبی و اثر این برهمکنش بر دسترسی زیستی و سمیت آلاینده‌ها می‌باشد.

منابع

1. **Kreyling, W.G., 2010.** A complementary definition of nanomaterial. Nano Today. 5: 165-168.
2. **Bameri, L., Sourinejad, I., Ghasemi, Z. and Fazelian, N., 2022.** Toxicity of TiO₂ nanoparticles to the marine microalga *Chaetoceros muelleri* Lemmermann, 1898 under long-term exposure. Environmental Science and Pollution Research. 29(20): 30427-30440.
3. **Abdi, V., Sourinejad, I., Yousefzadi, M. and Ghasemi, Z., 2019.** Biosynthesis of Silver Nanoparticles from the Mangrove *Rhizophora mucronata*: Its Characterization and Antibacterial Potential. Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A: Science. 43(5): 2163-2171.
4. **Rahimi, K. and Sourinejad, I., 2020.** Investigating the effects of silver nanoparticles on the gills of Iranian sturgeon *Acipenser persicus* using HNMR. Journal of Animal Environment. 12(4): 403-410. (In Persian)
5. **Mazarei, S., Sajjadi, M.M., Sourinejad, I., Johari, S.A. and Asadi, M., 2015.** Effect of lethal concentration of

16. **Lepage, G. and Roy, C.C., 1984.** Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. *Journal of Lipid Research*. 25(12): 1391-1396.
17. **Katok, K.V., Whitby, R.L.D., Fukuda, T., Maekawa, T., Bezverkhy, I., Mikhailovsky, S.V. and Cundy, A.B., 2013.** Hyperstoichiometric interaction between silver and mercury at the nanoscale. *Angew Chem Int Ed Engl*. 51(11): 2632-2635.
18. **Johari, S.A., 2016.** The effect of TiO₂ nanoparticles on acute toxicity of silver nanoparticles in Zebra fish (*Danio rerio*). *Journal of Aquatic Ecology*. 5(4): 108-115. (In Persian)
19. **Sumesh, E., Bootharaju, M.S. and Pradeep, A.T., 2011.** A practical silver nanoparticlebased adsorbent for the removal of Hg²⁺ from water. *Journal of Hazardous Materials*. 189: 450-457.
20. **Mansouri, B., Rahmani, R., Azadi, A. and Johari, S.A., 2016.** Combined effects of silver nanoparticles and mercury on gill histopathology of zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Coastal Life Medicine*. 4(6): 421-425.
21. **Seyedi, J., Behzadi Tayemeh, M., Esmailbeigi, M., Salari Joo, H., Keshtkar Langeroudi, E., Banan, A., Johari, S.A. and Jami, M.J., 2021.** Fatty acid alteration in liver, brain, muscle, and oocyte of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to silver nanoparticles and mitigating influence of quercetin-supplemented diet. *Environmental Research*. 194(2021): 110611.
22. **Arambourou, H., Lorente, L., Moreno-Ocio, I., Herrero, O., Barata, C., Fuertes, I., Delorme, N., M'endez-Fern'andez, L. and Planell'o, R., 2020.** Exposure to heavy metal-contaminated sediments disrupts gene expression, lipid profile, and life history traits in the midge *Chironomus riparius*. *Water Research*. 168: 165-115.
23. **Guler, G.O., Kiztanir, B., Aktumsek, A., Citil, O.B. and Ozparlak, H., 2008.** Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and ω3/ω6 ratios of carp (*Cyprinus carpio*) muscle lipids in Beysehir Lake (Turkey). *Food Chemistry*. 108(2): 689-694.