

اثرات مواجهه جداگانه و هم‌زمان نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و یون جیوه بر زنده‌مانی و ترکیب

اسیدهای چرب آرتمیا (*Artemia salina* (Linnaeus, 1758)معصومه محمدی^۱، زهرا قاسمی^{۱*}، ایمان سوری نژاد^۱

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

چکیده

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۱۵

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۱/۰۹/۳۰

*نویسنده مسئول:

z.ghasemi@hormozgan.ac.ir

بدلیل گسترش استفاده از نانوذرات در زمینه های مختلف و امکان ورود این نانوذرات به اکوسیستم های آبی لازم است تحقیقاتی در مورد اثرات این نانوذرات بر محیط اطراف صورت پذیرد. ناپلی آرتمیا *Artemia salina* بعنوان یک مدل زیستی مناسب در بوم آلاینده شناسی، در معرض غلظت های مختلف ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۱ یون جیوه بطور جداگانه و همچنین بطور همزمان با غلظت ثابت ۰/۸ppm و ۱ppm نانوذرات تیتانیوم دی اکساید قرار گرفت. تلفات آرتمیا پس از ۴۸ ساعت و همچنین اثرات این آلاینده ها بر پروفایل اسید چرب آرتمیا بررسی شد. تلفات آرتمیا در رویارویی همزمان جیوه و نانوذرات تیتانیوم دی اکساید یک اثر دوگانه نشان داد. تلفات در رویارویی همزمان جیوه و نانوذرات تیتانیوم دی اکساید با غلظت ثابت ۰/۸ppm در مقایسه با تیمار جداگانه جیوه افزایش یافت اما تلفات در رویارویی همزمان جیوه و نانوذرات تیتانیوم دی اکساید با غلظت ثابت ۱ppm در مقایسه با تیمار جداگانه جیوه کاهش یافت و اثر سمیت جیوه کم شد. همچنین کاهش اسیدهای چرب اشباع در رویارویی همزمان جیوه و نانوذرات تیتانیوم دی اکساید با غلظت ثابت ۱ppm در مقایسه با تیمار جداگانه جیوه مشاهده شد. مقدار اسیدهای چرب غیراشباع تک زنجیره و چند زنجیره در رویارویی همزمان جیوه و نانوذرات تیتانیوم دی اکساید با غلظت ثابت ۱ppm برابر با شاهد بود و نسبت به تیمار جداگانه جیوه افزایش داشت. یافته ها لزوم توجه بیشتر به پتانسیل برهمکنش آلاینده ها در اکوسیستم های آبی و اثرات این برهمکنش ها را بر سمیت آلاینده ها با توجه به غلظت آنها آشکار می سازد.

کلید واژه ها: نانوذرات فلزی، برهمکنش، سم شناسی، جیوه، *Artemia salina*

مقدمه

نانوتکنولوژی عبارت است از ساخت و استفاده از ساختارهایی با اندازه ای درحد ملکولی یا اتمی که حداقل یکی از ابعاد تشکیل دهنده آن ها با واحد نانومتر اندازه گیری و سنجیده شود. نانو ذرات دسته ای از نانو مواد هستند که ابعاد آن ها در حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر می باشد و دارای خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی متفاوتی هستند. گسترش استفاده از نانو مواد در زمینه های مختلف، امکان ورود آنها از طریق فاضلاب های خانگی و پساب های صنعتی را به اکوسیستم های آبی اجتناب ناپذیر می سازد و بنابراین، موجودات آبی در معرض نانو ذرات تولید شده قرار خواهند گرفت. در علم نانو سم شناسی آبریان تاثیرات احتمالی سمیت این نانو مواد بر عملکرد موجودات آبی مورد ارزیابی قرار می گیرد.

تیتانیوم دی اکساید ماده ای با ضریب شکست و جذب قوی اشعه ماوراء بنفش، سرعت انحلال پایین، خواص ضد میکروبی و ضد خوردگی و خصوصیات فوتوکاتالیستی است. نانو ذره تیتانیوم دی اکساید یکی از بیشترین نانو ذرات سنتز شده و مورد استفاده است و خصوصیات شیمیایی و فیزیکی منحصر به فرد آن بعلاوه سمیت کم و سازگاری زیستی آن را به یکی از امیدوار کننده ترین نانو مواد برای استفاده های پزشکی تبدیل نموده است [۱ و ۲]. در عین حال با توجه به افزایش تولید و استفاده در صنایع زیست پزشکی، بهداشتی و ساختمانی، نانو ذره TiO_2 به یکی از

آلاینده‌های نوظهور محیط زیست دریایی تبدیل شده است. ورود آنها به محیط دریایی می‌تواند تصادفی یا عمدی باشد و از طریق تخلیه سطحی، پساب و زباله‌های خانگی، بیمارستانی و صنعتی اتفاق می‌افتد که ممکن است زندگی موجودات آبی را تحت تأثیر قرار دهد [۳ و ۴]. جیوه یک فلز بسیار سمی است که به دو صورت معدنی و آلی وجود دارد و در هر دو صورت دارای سمیت زیادی برای موجودات زنده است. جیوه پیوندهای کووالانسی قوی در سیستم‌های بیولوژیکی ایجاد می‌کند و می‌تواند به طور مداوم از طریق زنجیره غذایی بزرگمایی شود و باعث تجمع زیستی در موجودات آبی گردد. کلرید جیوه ($HgCl_2$) به طور گسترده در محیط زیست دریایی از طریق ورود آلاینده‌های صنعتی وجود دارد. از آنجا که رهائش نانوذرات مختلف صنعتی از جمله تیتانیوم دی‌اکساید در بوم سازگان‌های آبی اجتناب ناپذیر است، نگرانی جهانی به دلیل پتانسیل اثرات سمی آنها بر سلامت انسان و محیط زیست در نتیجه تجمع زیستی رو به افزایش است [۵]. در بسیاری از مطالعات سمیت نانوذرات به صورت مجزا بر موجودات آبی بررسی شده است در حالی که اکوسیستم‌های طبیعی معمولاً به طور همزمان در معرض ترکیبی از آلاینده‌ها از جمله نانو مواد قرار می‌گیرند [۲]. در حال حاضر اطلاعات زیادی در مورد برهمکنش‌های نانومواد موجود در اکوسیستم‌های آبی وجود ندارد و این برهمکنش‌ها ممکن است باعث اثرات سمیت افزایشی یا کاهشی به واسطه ایجاد تغییراتی در تجمع آنها در آب یا بدن موجودات شود [۶]. در مورد نانوذرات تیتانیوم دی‌اکساید نیز برهمکنش آنها با دیگر نانوذرات و یا سایر آلاینده‌ها در محیط آبی ممکن است باعث تغییر در تجمع و سمیت آن در زیست‌مندان آبی شود [۷ و ۸].

در میان غذاهای زنده که در صنعت آبی پروری بکار می‌رود، ناپلیوس آرتمیا دامنه وسیعی را به خود اختصاص داده و سالانه بیش از ۲۰۰۰ تن سیست آرتمیا در بازار جهانی خرید و فروش می‌شود تا از ناپلیوس تفریخ شده آن به عنوان غذا استفاده شود. آرتمیا که از زیرشاخه سخت‌پوستان پلانکتونی است یک زئوپلانکتون بی‌مهره است که در بوم‌سازگان‌های دریایی مختلف یافت می‌شود و نقش بسیار مهمی در انتقال انرژی در زنجیره غذایی دارد [۹]. چرخه زندگی این سخت پوست شامل مراحل تخم، لارو، ناپلیوس، متاناپلیوس و زوآ است که مراحل لاروی آن از حساسیتهای بالایی در مقابل آلاینده‌های محیطی و سموم برخوردار است [۱۰]. در بین زئوپلانکتون‌های مختلف، آرتمیا به دلیل رفتار تغذیه فیلتر غیر انتخابی و ظرفیت تولیدمثل بالا و چرخه زندگی کوتاه به عنوان یک مدل آزمایشگاهی مناسب است [۱۱]. آرتمیا به عنوان یک نشانگر زیستی و یک ارگانیسم مدل، برای بررسی اثرات آلاینده‌های زیستمحیطی و توسعه استانداردهای علم سم شناسی آبریان بکار می‌رود [۱۰ و ۱۲]. با توجه به مطالب بیان شده، اهداف پژوهش حاضر بررسی زنده مانی و پروفایل اسیدهای چرب *Artemia salina* پس از رویارویی همزمان و جداگانه با نانوذرات TiO_2 و یون جیوه در غلظت‌های مختلف می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تخم‌گذاری *A. salina*

از روش‌های استاندارد موجود برای کشت آرتمیا استفاده شد (ISO/TS 20787) [۱۲]. سیست‌های آرتمیا پس از ضدعفونی، به ظروف مخروطی با شرایط آب شور ۳۵ ppt، دمای ۲۸ درجه سانتی گراد و نور ۲۰۰۰ لوکس منتقل شدند و به کمک پمپ هوا و شیلنگ هوادهی از ته ظروف هوادهی گردیدند. نور مورد نیاز با کمک چهار عدد لامپ مهتابی که در بالای انکوباتور بود تامین شد. سیست‌های *A. salina* بعد از ۱۸ الی ۲۴ ساعت تفریخ شدند.

تست سمیت نانوذره تیتانیوم دی‌اکساید و کلرید جیوه به صورت جداگانه بر آرتمیا

در ابتدا محلول‌های ۱۰۰ میلی گرم در لیتر تیتانیوم دی‌اکساید و کلرید جیوه متناسب با جرم ملکولی آن‌ها تهیه شد. سپس به منظور ایجاد محلول‌هایی همگن، محلول‌های تهیه شده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد درون دستگاه التراسونیک قرار داده شدند و بعد از خارج کردن از التراسونیک محلول‌هایی با غلظت‌های موردنظر (۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ میلی گرم در لیتر) به حجم ۸۰ سی سی در ۳ تکرار آماده گردید. درون هر غلظت ۲۰ ناپلی آرتمیا وارد شد و در مکان تاریک، بدون غذادهی و در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی گراد) قرار گرفت. هر ۲۴ ساعت تعداد تلفات به مدت ۴۸ ساعت شمارش شد. برای شمارش ناپلی‌های هر ظرف در زیر آنها یک صفحه تیره قرار داده

شد و با کمک چراغ قوه و ذره بین ناپلی های بدون تحرک شناسایی گردید بدین صورت که به مدت ۳۰ ثانیه به ظرف ضربه زده و در صورت عدم تحرک به عنوان تلفات شمارش شدند [۱۲].

تست سمیت نانوذره تیتانیوم دی اکساید و کلرید جیوه بصورت مواجهه توام بر آرتمیا

در این تست، ناپلی ها در معرض نانوذره تیتانیوم دی اکساید و کلرید جیوه به طور همزمان در دو غلظت ثابت تیتانیوم دی اکساید به همراه غلظت های مختلف کلرید جیوه به این صورت قرار داده شدند: غلظت های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ میلی گرم در لیتر کلرید جیوه با غلظت ثابت ۰/۱ میلی گرم در لیتر تیتانیوم دی اکساید و غلظت های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ میلی گرم در لیتر کلرید جیوه با غلظت ثابت ۰/۱ میلی گرم در لیتر تیتانیوم دی اکساید که به حجم ۸۰ سی سی با شوری ۳۵ میلی گرم در لیتر در سه تکرار تهیه شد. در هر غلظت ۲۰ ناپلی قرار داده شد و در محیط تاریک بدون غذایی و دمای محیط قرار گرفتند و هر ۲۴ ساعت یکبار تعداد تلفات شمارش شدند. بر اساس شمارش تعداد ناپلی های غیر متحرک، درصد تلفات یا به عبارتی درصد عدم تحرک محاسبه و غلظت مؤثر میانی (EC50) تعیین گردید [۱۲].

بررسی ترکیب اسیدهای چرب آرتمیا

بعد از محاسبه و تعیین غلظت مؤثر میانی، مقدار سه گرم ناپلی تازه هچ شده در معرض غلظت یک میلی گرم در لیتر نانوذره تیتانیوم دی اکساید و ۰/۰۰۵ میلی گرم در لیتر کلرید جیوه در حجم ۳ لیتر (هر لیتر به ازای یک گرم ناپلی) به مدت ۴۸ ساعت به همراه هوادهی، بدون غذایی و دمای ۲۸ درجه سانتی گراد قرار گرفت. همچنین مقدار سه گرم ناپلی در معرض غلظت ۰/۰۰۵ میلی گرم در لیتر کلرید جیوه به تنهایی قرار گرفت. سه گرم ناپلی نیز بدون قرار گرفتن در معرض آلاینده ها به عنوان شاهد استفاده شد و هر تیمار در سه تکرار انجام گرفت. بعد از ۴۸ ساعت با کمک خاصیت نورگرایی مثبت، آرتمیاهای بوسیله پیپ جمع آوری شدند. آرتمیاهای جمع شده از هر تیمار به اندازه ۰/۵ گرم وزن تر در میکروتیوب قرار گرفتند و بلافاصله در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد فریز شدند تا به آزمایشگاه پژوهشگاه آرتمیا دانشگاه ارومیه برای تعیین پروفایل اسیدهای چرب منتقل شوند.

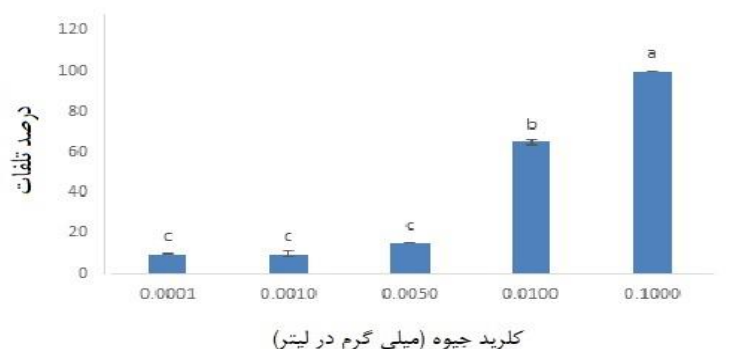
آنالیز آماری

از نرم افزار SPSS16 برای تجزیه و تحلیل آماری و از نرم افزار Excel برای رسم نمودارها استفاده شد. برای مقایسه میانگین متغیرهای مورد بررسی در بین تیمارها و بررسی وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین تیمارها از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و پس آزمون دانکن در سطح ۹۵ درصد استفاده گردید. داده های سمیت نیز با استفاده از نسخه ۱/۵ نرم افزار تجزیه و تحلیل پروبیت، با اطمینان ۹۵٪ آنالیز شدند.

نتایج

اثرات کلرید جیوه بر زنده مانی *A. Salina* در مواجهه ۴۸ ساعته

شکل ۱ نمودار درصد تلفات آرتمیا را در غلظت های مختلف کلرید جیوه در مواجهه ۴۸ ساعته نسبت به درصد تلفات شاهد نشان می دهد. در غلظت های ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۱ میلی گرم در لیتر تفاوت معنی داری در تلفات آرتمیا مشاهده نشد اما در غلظت های ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر مرگ و میر افزایش یافت. غلظت مؤثر میانی کلرید جیوه برابر با ۰/۰۰۹ میلی گرم در لیتر بود و در غلظت ۰/۰۰۵ میلی گرم در لیتر ده درصد تلفات و در غلظت ۰/۰۱۵ میلی گرم در لیتر نود درصد تلفات مشاهده شد.

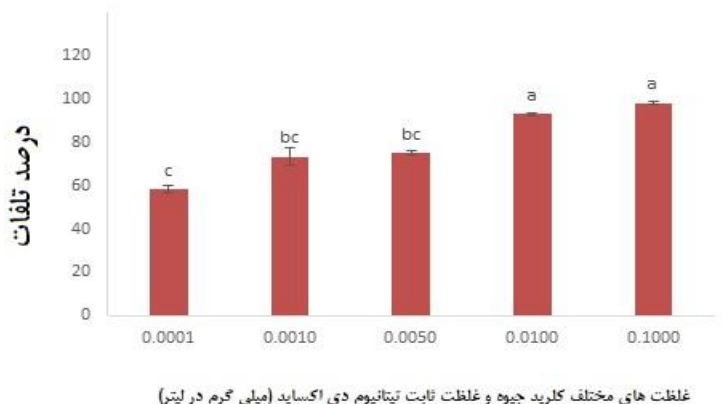


شکل ۱. نمودار مرگ و میر آرتمیا در غلظت های مختلف کلرید جیوه (میلی گرم در لیتر)

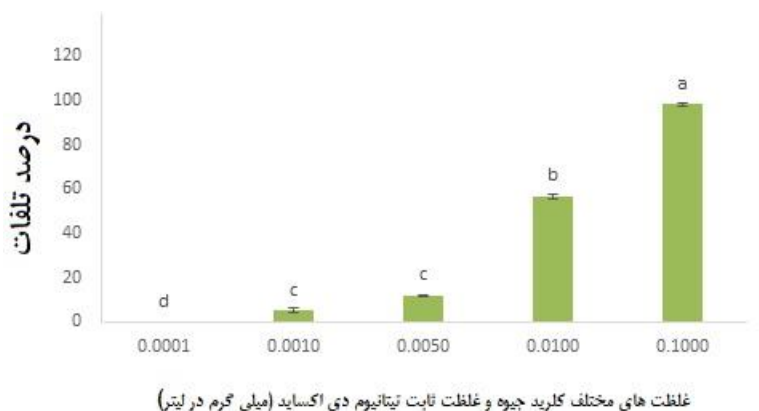
اثرات کلرید جیوه و نانوذره تیتانیوم دی اکساید بر زنده مانی *A. Salina* در مواجهه ۴۸ ساعته همزمان

شکل ۲ نمودار درصد تلفات آرتمیا را در مواجهه همزمان ۴۸ ساعته با تیتانیوم دی اکساید در غلظت ثابت ۰/۱ میلی گرم در لیتر و کلرید جیوه در غلظت های ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر نشان می دهد. در غلظت ۰/۰۰۰۱ میلی گرم در لیتر تفاوت معنی داری در مرگ و میر با غلظت های ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۵ میلی گرم در لیتر مشاهده نشد. میزان تلفات در غلظت های ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر کلرید جیوه نسبت به غلظت های کمتر افزایش یافت در حالی که این دو غلظت تفاوت معنی داری با هم نداشتند.

شکل ۳ نمودار درصد تلفات آرتمیا را در مواجهه همزمان ۴۸ ساعته با تیتانیوم دی اکساید در غلظت ثابت یک میلی گرم در لیتر و کلرید جیوه در غلظت های ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر نشان می دهد. در غلظت ۰/۰۰۰۱ میلی گرم در لیتر میزان تلفات صفر بود و تفاوت معنی داری با غلظت های ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۵ میلی گرم در لیتر مشاهده شد. میزان تلفات در این تیمار با افزایش غلظت کلرید جیوه تا ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر افزایش یافت. غلظت موثر میانی برابر با ۰/۰۱۱ میلی گرم در لیتر بود و در غلظت ۰/۰۰۹ میلی گرم در لیتر ده درصد تلفات و در غلظت ۰/۰۷۹ میلی گرم در لیتر نود درصد تلفات وجود داشت.

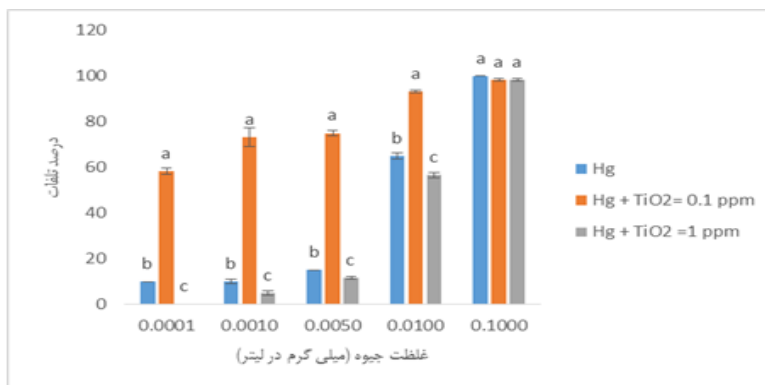


شکل ۲. نمودار مرگ و میر آرتمیا در غلظت های مختلف کلرید جیوه و غلظت ثابت تیتانیوم دی اکساید (۰/۱ میلی گرم در لیتر)



شکل ۳. نمودار مرگ و میر آرتمیا در غلظت های مختلف کلرید جیوه و غلظت ثابت تیتانیوم دی اکساید (یک میلی گرم در لیتر)

شکل ۴ مقایسه میزان تلفات *A. salina* را در معرض تیمارهای مختلف به مدت ۴۸ ساعت نشان می دهد. میزان تلفات در رویارویی همزمان یون جیوه در غلظت های ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر و نانوذره تیتانیوم دی اکساید در غلظت ثابت ۰/۱ میلی گرم در لیتر بیشتر از زمانی است که فقط رویارویی جداگانه با جیوه بود. تلفات در رویارویی همزمان یون جیوه در غلظت های مشابه و نانوذره تیتانیوم دی اکساید در غلظت ثابت ۰/۱ میلی گرم در لیتر به طور معنی داری کمتر از تیمار جداگانه جیوه و تیمار رویارویی همزمان جیوه و نانوذره تیتانیوم دی اکساید در غلظت ثابت ۰/۱ میلی گرم در لیتر بود. میزان تلفات در غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر جیوه در هر سه تیمار برابر بود.

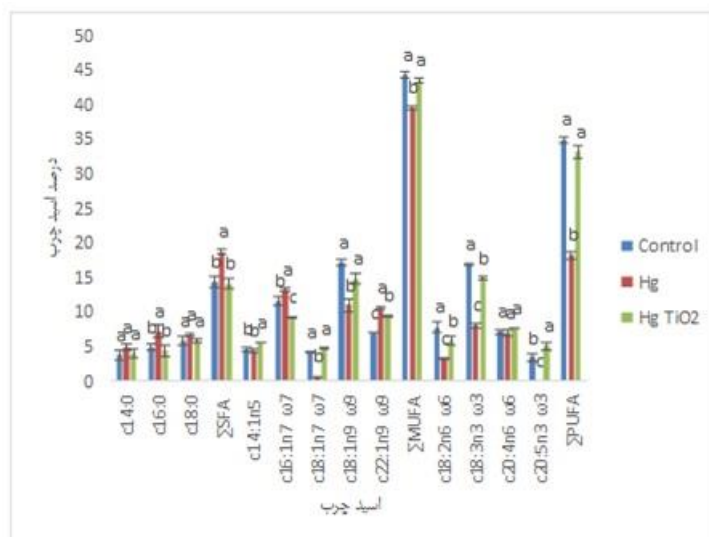


شکل ۴. مقایسه تلفات *A. salina* در غلظت های مختلف کلرید جیوه به طور جداگانه و به طور همزمان با غلظت ثابت ۰/۱ و یک میلی گرم در لیتر تیتانیوم دی اکساید

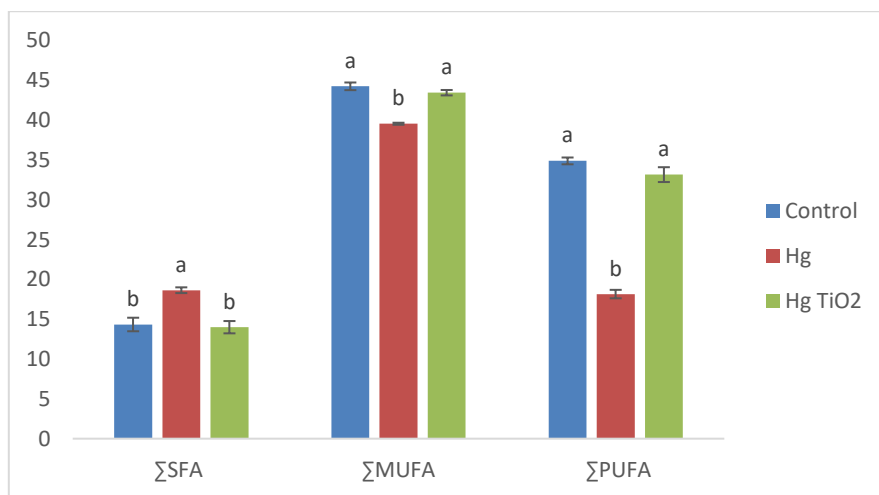
پروفایل اسیدهای چرب آرتمیا

نتایج بررسی پروفایل اسیدهای چرب آرتمیا در شکل های ۵ و ۶ ارائه شده است. میزان SFA در تیمار جداگانه جیوه در مقایسه با تیمار همزمان جیوه و تیتانیوم دی اکساید در غلظت ثابت یک میلی گرم در لیتر و شاهد اختلاف معنی داری داشت ($P < 0.05$). در رویارویی همزمان جیوه و تیتانیوم دی اکساید در غلظت ثابت یک میلی گرم در لیتر در مقایسه با شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در تمام تیمارهای آزمایشی از لحاظ اسیدهای چرب غیر اشباع با یک زنجیره (MUFA) و اسیدهای چرب غیر اشباع چند زنجیره (PUFA) اختلاف معنی داری بین تیمار جداگانه جیوه و تیمار همزمان جیوه و تیتانیوم دی اکساید در غلظت ثابت یک میلی گرم در لیتر و شاهد وجود داشت ($P < 0.05$). میزان SFA در تیمار

جیوه < جیوه و تیتانیوم دی اکسید $\cong$ شاهد بود اما میزان MUFA و PUFA در شاهد $\cong$ تیمار همزمان جیوه و تیتانیوم دی اکسید < جیوه بود.



شکل ۵. اثر تیمارهای مختلف در مقایسه با گروه شاهد بر میزان اسیدهای چرب آرتمیا (بر حسب درصد کل اسیدهای چرب). حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می باشد ($P > 0.05$).



شکل ۶. اثر تیمارهای مختلف در مقایسه با گروه شاهد بر میزان اسیدهای چرب اشباع شده (SFA)، اسیدهای چرب غیر اشباع با یک زنجیره (MUFA) و اسیدهای چرب غیر اشباع چند زنجیره (PUFA) در آرتمیا (بر حسب درصد کل اسیدهای چرب). حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می باشد ($P > 0.05$).

بحث

بر اساس مقایسه تلفات آرتمیا در تیمارهای رویارویی جداگانه و همزمان نانوذرات و جیوه که نتایج آن در شکل ۴ ارائه شده است میزان سمیت و تلفات در رویارویی همزمان یون جیوه در غلظت های مختلف و نانوذره تیتانیوم دی اکسید در غلظت ثابت ۰/۱ میلی گرم در لیتر بیشتر از زمانی است که فقط رویارویی با جیوه بوده است، در حالی که میزان سمیت و تلفات در رویارویی همزمان یون جیوه در غلظت های مختلف و نانوذره تیتانیوم دی اکسید در غلظت ثابت یک میلی گرم در لیتر به طور معنی داری کمتر از تیمار جداگانه جیوه و تیمار رویارویی همزمان جیوه و

نانوذره تیتانیوم دی اکساید در غلظت ثابت ۰/۱ میلی گرم در لیتر بود. این فر ضیه وجود دارد که نانوذرات تیتانیوم دی اکساید با غلظت بالاتر با جذب جیوه موجب کاهش دسترسی زیستی جیوه برای آرتمیا و کاهش اثر سمیت آن شده اند.

در مطالعه حاضر میزان EC50 کلرید جیوه برابر با ۰/۰۰۹ میلی گرم در لیتر بود، در غلظت ۰/۰۰۵ میلی گرم در لیتر ۱۰ درصد تلفات (EC10) و در غلظت ۰/۰۱۵ میلی گرم در لیتر ۹۰ درصد تلفات (EC90) مشاهده شد. این غلظت‌ها در تیمار رویارویی همزمان جیوه و نانوذره تیتانیوم دی اکساید در غلظت ثابت یک میلی گرم در لیتر به ترتیب برای EC10، EC50، EC90، ۰/۰۰۹، ۰/۰۱۱ و ۰/۰۷۹ میلی گرم در لیتر به دست آمد که نسبت به رویارویی جداگانه جیوه افزایش یافته است. نانوذرات تیتانیوم دی اکساید به دلیل وجود گروه هیدروکسیل (OH) روی سطح، پتانسیل نسبتاً بالایی برای جذب جیوه دارند^[۱۳]. علاوه بر این، غلظت‌های بالاتر نانوذرات تیتانیوم دی اکساید می‌تواند به طور موثر جیوه را جذب کند، در نتیجه دسترسی زیستی جیوه را کاهش داده و سمیت آن را کم کند. بنابراین وجود نانوذرات تیتانیوم دی اکساید در کنار جیوه می‌تواند با جذب جیوه روی نانوذرات، از هم افزایی آنها جلوگیری کند و در نتیجه یک اثر آنتاگونیستی بر *A. salina* ایجاد نماید^[۱۴].

نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر با یافته‌های مطالعات پیشین نیز مطابقت دارد. Thiagarajan و همکاران نشان دادند که سمیت کروم (VI) بر *A. salina* در حضور نانوذرات تیتانیوم دی اکساید کاهش قابل توجهی یافت. مطالعه اثرات رویارویی جداگانه نانوذره تیتانیوم دی اکساید و کروم (VI) بر *A. Salina* نشان داد که تیتانیوم دی اکساید در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی گرم بر لیتر و کروم شش ظرفیتی در غلظت‌های ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر متناسب با افزایش غلظت، باعث افزایش مرگ و میر *A. salina* می‌شوند. در مطالعه اثر ترکیبی نانوذره تیتانیوم دی اکساید در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر با غلظت ثابت ۰/۱۲۵ گرم در لیتر کروم شش ظرفیتی، اثر سمی نانوذره تیتانیوم دی اکساید کاهش نیافت، اما در تیمار ترکیبی کروم شش ظرفیتی با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر با غلظت ثابت ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر تیتانیوم دی اکساید کاهش قابل توجهی در سمیت کروم شش ظرفیتی مشاهده شد^[۱۱]. در سال ۲۰۱۸ نیز Li و همکاران گزارش دادند که سمیت یون کادمیوم بر باکتری *Escherichia coli* در رویارویی همزمان یون کادمیوم با نانوذرات تیتانیوم دی اکساید کاهش یافت^[۱۵]. اثرات کادمیوم و سرب بر سخت پوست پلانکتونی *Daphnia magna* در غیاب و حضور نانوذرات تیتانیوم دی اکساید توسط Li و همکاران در سال ۲۰۱۷ مورد بررسی قرار گرفت^[۵]. نتایج نشان داد که حضور نانوذرات باعث افزایش تجمع زیستی و سمیت کادمیوم بر سخت پوست مورد مطالعه می‌شود. در مقابل، در حالی که تجمع زیستی سرب سه تا چهار برابر افزایش یافت، سمیت سرب در حضور نانوذرات تیتانیوم دی اکساید با غلظت ۲ میلی گرم در لیتر کاهش یافت. کاهش سمیت سرب به کاهش دسترسی زیستی یون سرب آزاد به دلیل جذب سرب بر نانوذرات تیتانیوم دی اکساید نسبت داده شد. تجمع، توزیع و سمیت آرسنات بر *D. magna* در حضور نانوذرات تیتانیوم دی اکساید توسط Li و همکاران در سال ۲۰۱۶ بررسی شد^[۱۶]. نانوذرات تیتانیوم دی اکساید به عنوان یک حامل، به طور قابل توجهی میزان جذب آرسنات توسط *D. magna* را افزایش دادند. افزایش غلظت نانوذرات تیتانیوم از ۲ به ۲۰ میلی گرم در لیتر موجب افزایش ضریب جذب آرسنات گردید. اگرچه میزان تجمع آرسنات با افزایش غلظت نانوذرات *D. magna* افزایش یافت، اما سمیت آرسنات مرتبط با نانوذرات تیتانیوم دی اکساید یک اثر دوگانه نشان داد. در غلظت‌های بالاتر نانوذرات، افزایش سمیت آرسنات مشاهده شد و در غلظت‌های پایین‌تر، سمیت کاهش یافت. کاهش سمیت آرسنات در غلظت‌های کمتر نانوذرات تیتانیوم دی اکساید ناشی از جذب و خنثی کردن آرسنات و کاهش دسترسی زیستی آن گزارش شد. بنابراین، توجه بیشتری باید به پتانسیل اثر نانوذرات تیتانیوم دی اکساید بر دسترسی زیستی و سمیت آلاینده‌های همراه معطوف شود.

در پژوهش حاضر از لحاظ میزان اسیدهای چرب بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود داشت به طوری که بیش‌ترین اسیدهای چرب SFA در تیمار جداگانه جیوه و کم‌ترین اسیدهای چرب اشباع در تیمار همزمان جیوه و نانوذره تیتانیوم دی اکساید در غلظت ثابت یک میلی گرم در لیتر و شاهد مشاهده گردید. همچنین بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب MUFA و PUFA مربوط به تیمار همزمان جیوه و نانوذره تیتانیوم دی اکساید در غلظت ثابت یک میلی گرم در لیتر و تیمار شاهد بود. کم‌ترین میزان اسیدهای چرب MUFA و PUFA نیز در تیمار جداگانه

جیوه مشاهده گردید. لیپیدها و اسیدهای چرب سازنده آنها در بافت‌های مختلف از نظر سم شناسی قابل توجه هستند چون تصویری از متابولیسم لیپید پس از قرار گرفتن در معرض مواد زنبوبیوتیک (Xenobiotic) را نشان می‌دهند^[۱۷]، از آنجا که لیپیدها به تنش‌های غیر زیستی و محیطی مختلف بسیار حساس هستند، تولید رادیکال‌های آزاد ROS توسط آلاینده‌ها به‌ویژه فلزات، می‌تواند درجه اشباع اسید چرب را افزایش دهد^[۱۸]. فلزات سنگین موجب پراکسیداسیون لیپید شده و اسیدهای چرب برای فرآیندهای سم زدایی بسیج می‌شوند بنابراین، ترکیب اسید چرب پس از قرار گرفتن در معرض جیوه تغییر می‌یابد. نتایج نشان می‌دهد رویارویی هم‌زمان نانوذرات تیتانیوم دی‌اکساید با یون جیوه موجب کاهش معنی‌دار اسیدهای چرب اشباع SFA در مقایسه با تیمار جداگانه جیوه گردید. مقدار و ترکیب اسیدهای چرب SFA در رویارویی هم‌زمان نانوذره تیتانیوم دی‌اکساید با جیوه تقریباً مشابه مقادیر و ترکیب آنها در تیمار شاهد بود.

همچنین نتایج بیانگر افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع MUFA و PUFA در رویارویی هم‌زمان جیوه و نانوذره تیتانیوم دی‌اکساید بود و این مقدار با شاهد برابر بود. یکی از مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی با ارزش غذایی بالا در آرتمیا، اسیدهای چرب غیر اشباع 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 به طوری که آبزیان دارای کیفیت چربی مناسب عموماً دارای اسیدهای چرب اشباع شده کمتری هستند^[۱۹]. برهم کنش نانوذرات تیتانیوم دی‌اکساید و یون جیوه در محیط آبی به دلیل وجود گروه هیدروکسیل (OH) روی سطح این نانوذرات و پتانسیل نسبتاً بالای آنها برای جذب جیوه می‌باشد که به طور موثر جیوه را جذب نموده و در نتیجه دسترسی زیستی جیوه را کاهش داده و سمیت آن را کاهش می‌دهد. در واقع همان گونه که بیان گردید وجود نانوذرات تیتانیوم دی‌اکساید به همراه جیوه می‌تواند با جذب جیوه روی نانوذرات، از هم‌افزایی آنها جلوگیری نموده و در نتیجه یک اثر آنتاگونیستی روی *A. salina* ایجاد کند. این موضوع در بررسی ترکیب اسید چرب *A. salina* با کاهش اسیدهای چرب اشباع SFA در رویارویی هم‌زمان جیوه و نانوذرات تیتانیوم دی‌اکساید نسبت به مقدار این نوع اسیدهای چرب در تیمار جداگانه جیوه و برابر بودن مقدار اسیدهای چرب غیر اشباع MUFA و PUFA در رویارویی هم‌زمان جیوه و نانوذرات تیتانیوم دی‌اکساید با تیمار شاهد تایید شد.

مرور منابع پیشین نشان داد که در مورد تغییرات اسیدهای چرب آرتمیا تحت تاثیر آلاینده‌ها گزارشی منتشر نشده است. در مطالعه‌ای توسط Behzadi Tayemeh و همکاران در سال ۲۰۲۰، ترکیب اسیدهای چرب میکرو جلبک *Chlorella vulgaris* تحت تاثیر نانوذرات و یون نقره بررسی شد^[۲۰]. این مطالعه نشان داد که مقدار کل SFA با افزایش غلظت AgNPs و AgNO₃ افزایش یافت. در مقابل، اسیدهای چرب MUFA، PUFA و نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع با افزایش غلظت AgNPs و AgNO₃ روند کاهشی داشت. در مجموع، AgNPs و یون‌های آزاد شده می‌توانند وضعیت سلامت فیزیولوژیکی ریزجلبک‌ها را از طریق اختلال در ترکیب اسیدهای چرب به ویژه MUFA و PUFA و سایر ماکرومولکول‌ها مختل کنند. این نوع اختلالات زیستی می‌توانند وضعیت سلامت اکوسیستم‌های آبی را تغییر دهند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده، جیوه غیر آلی (کلرید جیوه) دارای اثرات سمیت بر گونه سخت پوست آرتمیای مورد مطالعه *A. salina* بود و موجب تغییر در ترکیب اسیدهای چرب آن گردید. میزان تلفات آرتمیا در تیمارهای رویارویی هم‌زمان جیوه و نانوذرات تیتانیوم دی‌اکساید یک اثر دوگانه نشان داد. میزان تلفات در رویارویی هم‌زمان جیوه و نانوذرات تیتانیوم دی‌اکساید با غلظت ثابت ۰/۱ میلی گرم در لیتر در مقایسه با تیمار جداگانه جیوه افزایش یافت اما میزان تلفات در تیمار رویارویی هم‌زمان جیوه و نانوذرات تیتانیوم دی‌اکساید با غلظت ثابت ۱ میلی گرم در لیتر در مقایسه با تیمار جداگانه جیوه کاهش پیدا کرد. در غلظت بالاتر نانوذرات، کاهش سمیت جیوه مشاهده شد. کاهش سمیت جیوه به دلیل جذب و خنثی کردن جیوه و کاهش دسترسی زیستی آن می‌باشد. همچنین در بررسی ترکیب اسید چرب *A. salina* در مقایسه با تیمار جداگانه جیوه، کاهش اسیدهای چرب اشباع SFA در رویارویی هم‌زمان جیوه و نانوذرات تیتانیوم دی‌اکساید با غلظت ثابت ۱ میلی گرم در لیتر تا حد

مقدار این نوع اسیدهای چرب در تیمار شاهد مشاهده شد. علاوه بر این، مقدار اسیدهای چرب غیر اشباع MUFA و PUFA در رویارویی هم‌زمان جیوه و نانوذرات تیتانیوم دی اکساید با غلظت ثابت ۱ میلی گرم در لیتر برابر با شاهد بود و نسبت به تیمار جداگانه جیوه افزایش داشت. یافته‌های مطالعه حاضر لزوم توجه بیشتر به پتانسیل برهمکنش آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های آبی و اثر این برهمکنش بر دسترسی زیستی و سمیت آلاینده‌ها را با توجه به غلظت آنها آشکار می‌سازد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از مجموعه مدیریتی آزمایشگاه‌های دانشگاه هرمزگان در فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام مطالعه حاضر قدردانی می‌نمایند.

منابع مالی

مطالعه حاضر با حمایت مالی پایان نامه‌های دانشگاه هرمزگان و اعتبار پژوهشی نویسندگان انجام شده است.

منابع

1. Lu J, Tian S, Lv X, Chen Z, Chen B, Zhu X, Cai Z. TiO₂ nanoparticles in the marine environment: Impact on the toxicity of phenanthrene and Cd (2+) to marine zooplankton *Artemia salina*. *Science of the Total Environment*. 2018; 615, 375-380.
2. Sharma V.K, Sayes C.M, Guo B, Pillai S, Parsons J.G, Wang C, Yan B, Ma X. Interactions between silver nanoparticles and other metal nanoparticles under environmentally relevant conditions: A review. *Science of the Total Environment*. 2019; 653, 1042-1051.
3. Ghasemi Z, Abdi V, Sourinejad I. Single-step biosynthesis of Ag/AgCl@TiO₂ plasmonic nanocomposite with enhanced visible light photoactivity through aqueous leaf extract of a mangrove tree. *Applied Nanoscience*. 2020; 10, 507-516.
4. Haghighat F, Kim Y, Sourinejad I, Yu I.J, Johari S.A. Titanium dioxide nanoparticles affect the toxicity of silver nanoparticles in common carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere*. 2021; 262, 127805.
5. Li L, Sillanpää M, Schultz E. Influence of titanium dioxide nanoparticles on cadmium and lead bioaccumulations and toxicities to *Daphnia magna*. *Journal of Nanoparticle Research*. 2017; 19, 223.
6. Mansouri A, Fathi M, Mansouri B, Azadi N.A. Coexisting of titanium dioxide nanoparticles and diazinon on histopathology of common carp (*Cyprinus carpio*). *Comparative Clinical Pathology*. 2016; 25, 1227-1236.
7. Hu S, Han J, Yang L, Li S, Guo Y, Zhou B, Wu H. Impact of co-exposure to titanium dioxide nanoparticles and Pb on zebrafish embryos. *Chemosphere*. 2019; 233, 579-589.
8. Torre C.D, Buonocore F, Frenzilli G, Corsolini S, Brunelli A, Guidi P, Kocan A, Mariottini M, Mottola F, Nigro M, Pozo K, Randelli E, Vannuccini M.L, Picchietti S, Santonastaso M, Scarcelli V, Focardi S, Marcomini A, Rocco L, Scapigliati G, Corsi I. Influence of titanium dioxide nanoparticles on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin bioconcentration and toxicity in the marine fish European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Environmental Pollution*. 2015; 196, 185-193.
9. Nunes B.S, Carvalho F.D, Guilhermino L.M, Van Stappen G. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environmental Pollution*. 2006; 144 (2): 453-462.
10. Libralato G. The case of *Artemia* spp. In nanoecotoxicology. *Marine Environmental Research*. 2014; 101: 38-43.
11. Thiagarajan V, Seenivasan R, Jenkins D, Chandrasekaran N, Mukherjee A. Combined effects of nano-TiO₂ and hexavalent chromium towards marine crustacean *Artemia salina*. *Aquatic Toxicology*. 2020; 225: 105541.

12. ISO/TS 20787:2017. Nanotechnologies - Aquatic toxicity assessment of manufactured nanomaterials in saltwater lakes using *Artemia* sp. Nauplii.
13. Asuha S, Zhou X.G, Zhao S. Adsorption of methyl orange and Cr (VI) on mesoporous TiO₂ prepared by hydrothermal method. *Journal of Hazardous Materials*. 2010; 181, 204–210.
14. Matouke M.M, Mustapha M.K. Antagonistic effects of binary mixture of titanium dioxide nanoparticles and lead on biomass and oxidative stress in exposed *Chloroidium ellipsoideum* (Gerneck). *Polish Journal of Natural Sciences*. 2019; 34, 367–382.
15. Li M, Pei J, Tang X, Guo X. Effects of surfactants on the combined toxicity of TiO₂ nanoparticles and cadmium to *Escherichia coli*. *Journal of Environmental Sciences*. 2018; 74, 126-133.
16. Li M, Luo Z, Yan Y, Wang Z, Chi Q, Yan C, Xing B. Arsenate Accumulation, Distribution, and Toxicity Associated with Titanium Dioxide Nanoparticles in *Daphnia magna*. *Environmental Science & Technology*. 2016; 50, 9636-9643.
17. Seyedi J, Behzadi Tayemeh M, Esmailbeigi M, Salari Joo H, Keshtkar Langeroudi E, Banan A, Johari S. Ali, Jami M.J. 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*. 2021; 194, 110611.
18. Arambourou H, Llorente L, Moreno-Ocio I, Herrero 'O, Barata C, Fuertes I, Delorme N, M'endez-Fern'andez L, Planell'o R. Exposure to heavy metal-contaminated sediments disrupts gene expression, lipid profile, and life history traits in the midge *Chironomus riparius*. *Water Research*. 2020; 168, 115165.
19. Guler G.O, Kiztanir B, Aktumsek A, Citil O.B, Ozparlak H. Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and $\omega 3/\omega 6$ ratios of carp (*Cyprinus carpio*) muscle lipids in Beysehir Lake (Turkey). *Food Chemistry*. 2008; 108(2), 689-694.
20. Behzadi Tayemeh M, Esmailbeigi M, Shirdel I, Joo H.S, Johari S.A, Banan A, Nourani H, Mashhadi H, Jami M.J, Tabarrok M. 2020. Perturbation of fatty acid composition, pigments, and growth indices of *Chlorella vulgaris* in response to silver ions and nanoparticles: A new holistic understanding of hidden ecotoxicological aspect of pollutants. *Chemosphere*. 2020; 238, 124576.

Effects of separate and combined exposure to titanium dioxide nanoparticles and mercury ion on survival and fatty acid profile of *Artemia salina* (Linnaeus, 1758)

Masoomeh Mohammadi¹, Zahra Ghasemi^{1*}, Iman Sourinejad¹

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

ABSTRACT

Due to widespread use of nanoparticles in various fields and the possibility of entering these nanoparticles into aquatic ecosystems, it is necessary to study the effects of these nanoparticles on surrounding environment. *Artemia salina* nauplii as a suitable biological model in ecotoxicology were exposed to different concentrations of 0.0001, 0.001, 0.005, 0.01 and 0.1 ppm mercury ions separately and simultaneously with a constant concentration of 0.1 ppm and 1 ppm titanium dioxide nanoparticles. The mortality rate of *Artemia* after 48 hours and the effects of these contaminants on fatty acid profile of *Artemia* were investigated. *Artemia* mortality in co-exposure treatment showed a dual effect. The mortality in the simultaneous exposure with constant concentration of 0.1ppm titanium dioxide increased compared with separate treatment of mercury. The mortality in simultaneous treatment with constant concentration of 1ppm titanium dioxide decreased compared with the separate treatment of mercury and the effect of mercury toxicity was reduced. Also, a decrease in saturated fatty acids was observed in the simultaneous exposure of mercury and titanium dioxide nanoparticles with a constant concentration of 1ppm compared with the separate treatment of mercury. The amount of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in the simultaneous exposure with constant concentration of 1ppm titanium dioxide was equal to control and increased compared with separate treatment of mercury. Present findings indicate the necessity of paying more attention to the potential interactions of pollutants in aquatic ecosystems and the effects of these interactions on the bioavailability and toxicity of pollutants regarding their concentration.

KEYWORDS: Metal nanoparticles, Toxicology, Mercury, *Artemia salina*

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 1 Sept 2022

Accepted: 6 Dec 2022

ePublished: 21 Dec 2022

* Corresponding Author:

Email address: z.ghasemi@hormozgan.ac.ir

© Published by Tarbiat Modares University