

"مقاله پژوهشی"

مقایسه غلظت فلز روی در مواجهه مزمن با نانوذرات اکسیدروی به صورت منفرد و توام با نانوذرات نقره در بافت‌های مختلف ماهی گورخری (*Danio rerio*)

مریم محجوبیان^۱، اکرم سادات نعیمی^{۱*}، زینب مرادی شوئیلی^۲، برهان منصوری^۳

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲- گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۳- مرکز تحقیقات پیشگیری سوء مصرف مواد، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۸/۱۶

چکیده

میزان سمیت مواد در مواجهه هم‌زمان با دیگر آلاینده‌های محیطی دستخوش تغییر می‌شوند و می‌توانند آسیب‌های متفاوت‌تری نسبت به حالت منفرد خود در آبزیان ایجاد نمایند. بنابراین، هدف از این پژوهش، ارزیابی کمی جذب، دفع و غلظت زیستی روی در مواجهه با نانوذرات اکسیدروی در حضور و عدم حضور نانوذرات نقره در بافت‌های آبشش، روده و کبد ماهی گورخری (*Danio rerio*) با استفاده از مدل‌سازی توکسیکوکنتیک بود. در مطالعه حاضر، ۲۱۶ قطعه ماهی گورخری به مدت ۵۶ روز (۲۸ روز مواجهه و ۲۸ روز پاکسازی) در معرض یک غلظت غیرکشنده نانوذرات اکسیدروی (۱۰ میلی گرم برلیتر) و دو غلظت غیرکشنده نانوذرات اکسیدروی و نقره به صورت توام (۱۰ میلی گرم برلیتر نانوذرات اکسیدروی + ۰/۰۲ یا ۰/۰۴ میلی گرم برلیتر نانوذرات نقره) به همراه شاهد در ۳ تکرار قرار گرفتند. پس از اتمام دوره‌های مختلف نمونه برداری، غلظت فلز روی در آب و بافت‌های مختلف اندازه‌گیری شد. نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت روی در حضور نانوذرات نقره به ترتیب در بافت آبشش < روده < کبد بیشتر بود. همچنین کوتاه‌ترین نیمه عمر فلز روی در بافت آبشش و در تیمار توام با نانوذرات نقره مشاهده گردید. یافته‌ها نشان داد که علاوه بر بافت، زمان و غلظت مواجهه، حضور نانوذره نقره نیز بر میزان غلظت فلز روی تاثیر گذار است.

کلمات کلیدی: نانوذرات نقره، نانوذرات اکسیدروی، ماهی گورخری، اثرات توام، توکسیکوکنتیک

مقدمه

در سال‌های اخیر، نانومواد مهندسی شده در سطح وسیعی تولید و مورد استفاده قرار می‌گیرند و افزایش روزافزون آن‌ها در اکوسیستم‌های آبی طبیعی یک مساله نوظهور است. در میان انواع مختلف نانوذرات فلزی، نانوذرات اکسیدروی و نانوذرات نقره به دلیل استفاده و کاربرد بسیار گسترده، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (Lopes et al., 2016). نانوذرات اکسیدروی سومین نانوذرات تولید شده در سطح جهان، پس از تیتانیوم دی‌اکسید و سیلیسیوم، با تولید سالانه بیش از ۵۰۰ تن است (Piccinno et al., 2012). نانوذرات اکسیدروی دارای خواص ضد خوردگی، فوتوکاتالیستی و ضد میکروبی است، نور UV را جذب می‌کند و پایداری بالایی دارد؛ بنابراین، به طور گسترده در بسیاری از محصولات از جمله لاستیک، مواد آرایشی، رنگ، کاغذ، پلاستیک، کاتالیزور، ضد آفتاب و الیاف استفاده می‌شوند (Pandurangan and Kim, 2015). برخی مطالعات غلظت نانوذرات اکسیدروی را در محیط‌های مختلف از جمله خاک، لجن و فاضلاب به ترتیب در محدوده ۱۰۰-۱ میلی گرم بر کیلوگرم، ۱۰۰-۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم و ۷۶-۷۶۰ میکروگرم بر کیلوگرم پیش‌بینی کرده‌اند (Ghosh et al., 2016). نانو ذرات نقره یکی از پرکاربردترین نانوذرات با تولید جهانی نزدیک به ۱۳۵ تا ۴۲۰ تن در سال است (Pulit-Prociak and Banach, 2016). یکی از مهم‌ترین خواص نانوذرات نقره خاصیت ضد میکروبی آن است از همین رو در مواد شوینده، مواد آرایشی، لباس، کفش، منسوجات، صفحه کلید، اسباب بازی، تلفن، لپ‌تاپ، سیستم‌های تصفیه آب، افزودنی‌های غذایی،

پوشش ماسک‌های تنفسی، پانسمان زخم و ... مورد استفاده قرار می‌گیرد (Prabhu and Poulose, 2012). افزایش تعداد محصولات و استفاده گسترده از نانوذرات به احتمال زیاد به معنی مواجهه جانوران آبرزی با آنهاست (Impellitteri et al., 2009; Naeemi et al., 2020). هنگامی که نانوذرات در اکوسیستم‌های محیطی تخلیه می‌شود، ممکن است با آلاینده‌های مختلف، مانند سایر نانوذرات تعامل داشته باشند. چون موجودات آبرزی اغلب در معرض مخلوط پیچیده‌ای از آلاینده‌ها از جمله مخلوطی از نانوذرات قرار می‌گیرند و این اثرات متقابل می‌تواند میزان جذب و سمیت آن‌ها را برای موجودات تغییر دهد (Mansouri et al., 2017). بنابراین، بررسی اثر نانوذرات مختلف به صورت توأم برای ارزیابی خطر آن‌ها ضروری و مهم است. اگرچه بسیاری از مطالعات، آسیب‌های ناشی از نانوذرات را به صورت منفرد در ماهی نشان داده‌اند (احمدی و همکاران، ۱۳۹۵؛ اسمعیل کاویانی و همکاران، ۱۳۹۶؛ ضیایی نژاد و همکاران، ۱۳۹۷؛ محجوبیان و نعیمی، ۱۳۹۶؛ ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۹). اما در مطالعات نسبتاً کمی این اثرات را به صورت توأم بررسی شده‌است (Haghighat et al., 2021). علاوه بر این مطالعات توأم انجام شده گزارش کرده‌اند که قرارگرفتن در معرض نانوذرات مختلف به صورت همزمان ممکن است با موارد مشاهده شده برای قرارگرفتن در معرض نانوذرات منفرد متفاوت باشد. به عنوان مثال، Haghighat و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که قرارگرفتن در معرض همزمان نانوذرات تیتانیوم دی‌اکسید و نقره در ماهی کپور (*Cyprinus carpio*)، باعث افزایش سمیت نانوذرات نقره شد و Mansouri و همکاران (۲۰۱۶) گزارش دادند که

اثرات مواجهه همزمان نانوذرات اکسیدروی و نقره را با استفاده از مدل توکسیکوکنتیک بر غلظت روی در سه بافت آبشش، روده، و کبد ماهی گورخری، به عنوان یکی از گونه‌های مدل برای تحقیقات سم‌شناسی، طی مدت ۵۶ روز (۲۸ روز در دوره مواجهه و ۲۸ روز در دوره پاکسازی) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش شامل سدیم هیدروکسید (NaOH)، روی استات دو آب $(\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ ، اتانول $(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})$ ، نقره نیترات (AgNO_3) و سدیم بوروهیدرید (NaBH_4) از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

سنتز نانوذرات روی اکسید (ZnO NPs)

۲ گرم روی استات دو آب $(\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ در ۴۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. سپس محلول سدیم هیدروکسید (۴ گرم سدیم هیدروکسید حل شده در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) قطره قطره به محلول حاوی روی استات تحت هم زدن شدید اضافه شد تا pH به ۹ برسد. رسوب به دست آمده به وسیله کاغذ صافی واتمن جدا شد و چندین بار با آب مقطر و اتانول شسته شد و سپس در آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت خشک گردید (Hasnidawani et al., 2016).

سمیت نانوذرات اکسیدمس و تیتانیوم‌دی‌اکسید در بافت‌های مختلف ماهی کپور معمولی افزایش یافته است. برخلاف این مطالعات، برخی تحقیقات نشان دادند که سمیت همزمان نانوذرات کمتر از سمیت تخمین زده شده برای ذرات منفرد است، همان گونه که در مواجهه همزمان نانوذرت تیتانیوم‌دی‌اکسید و نانوذرات اکسیدروی در جنین ماهی گورخری و باکتری‌ها نشان داده شده است (Tong et al., 2015; Hua et al., 2016). علاوه بر این، اثرات سمی ترکیبی برخی از نانوذرات برای موجودات مختلف متفاوت است. به عنوان مثال، نانوذرات اکسیدروی و نانوذرات - اکسیدگرافن در *Daphnia magna* و *Scenedesmus obliquus* سمیت را افزایش دادند، در حالی که در ماهی گورخری سمیت را کاهش دادند (Ye et al., 2018). همچنین مطالعات بسیار محدودی در مورد مواجهه توام نانوذرات در بافت‌های ماهیان به خصوص با استفاده از مدل توکسیکوکنتیک انجام شده است. در مطالعه Mansouri و همکاران (۲۰۱۶) نشان داده شد که غلظت مس در بافت‌های مختلف ماهی کپور در مواجهه توام نانوذرات اکسیدمس و تیتانیوم‌دی‌اکسید نسبت به مواجهه منفرد نانوذرات اکسیدمس بیشتر بود. مدل توکسیکوکنتیک، در واقع مطالعه دوره زمانی جذب و دفع آلاینده‌ها در موجودات است. همچنین مدل توکسیکوکنتیک و اندازه‌گیری پارامترهای سرعت زیستی می‌تواند در ارزیابی کمی جذب، دفع و غلظت زیستی نانوذرات در موجودات آبرزی از طریق قرار گرفتن در معرض آب یا رژیم غذایی بسیار مفید باشد (Fan et al., 2018). مطالعات محدودی به بررسی اثر همزمان دو نانوذره نقره و اکسیدروی در ماهی پرداخته است (Mahjoubian et al., 2023)، در این مطالعه

سنتز نانوذرات نقره (Ag NPs)

مقدار ۴۲/۵ میلی گرم نیترات نقره در ۵۰ میلی-لیتر آب دیونیزه به مدت ۳۰ دقیقه بر روی همزن مغناطیسی برای سنتز نانوذرات نقره هم خورد. همچنین، ۲۰ میلی گرم سدیم بوروهیدرید به صورت جداگانه در ۵۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل شد و سپس محلول اول به صورت قطره قطره به محلول دوم اضافه گردید و به مدت ۳ ساعت بر روی همزن مغناطیسی هم زده شد. مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۷۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد و رسوب حاصل چندین مرتبه با آب و اتانول شسته شد. سپس، به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد خشک شد (Nidya et al., 2015).

خصوصیات نانوذرات سنتز شده

جهت بررسی حالت بلوری، تعیین فاز و همچنین میزان ناخالصی موجود در نانوذرات الگوی از اشعه ایکس استفاده شد. الگوی پراش اشعه ایکس به وسیله آنالیز X-ray (مدل دستگاه: X'Pert MPD، شرکت سازنده: فیلیپس، هلند) با زاویه ۱۰ تا ۸۰ درجه انجام گردید. برای بررسی شکل و اندازه نانوذرات در حالت جامد و مایع به ترتیب از میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM) (مدل دستگاه: MIRA3TESCAN، شرکت سازنده: Tescan، جمهوری چک) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (مدل دستگاه: EM10C-100KV، شرکت سازنده: ZEISS، آلمان) استفاده شد. همچنین از آنالیز پراکندگی نور دینامیکی (DLS) و پتانسیل زتا برای تعیین اندازه ذرات در آب و تمایل ذرات درون مایع برای اتصال به یکدیگر انجام گردید. این آنالیز به وسیله

دستگاه DLS (مدل دستگاه: ZEN3600، شرکت سانده: Malvern) انجام شد. آنالیز UV-vis در محدوده ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر (مدل دستگاه: Shimadzu1601، شرکت سانده: توکیو، ژاپن) برای طیف‌گیری از نمونه‌ها در ناحیه UV-vis اندازه‌گیری شد.

شرایط آزمایش و تیمارهای مورد بررسی

تعداد ۲۱۶ قطعه ماهی گورخری (*Danio reirio*) با میانگین وزنی 3 ± 0.5 گرم از کارگاه خصوصی پرورش و تکثیر ماهیان زینتی در رشت خریداری و در زمستان سال ۱۳۹۹ به آزمایشگاه زیست دریا در دانشگاه گیلان منتقل گردید. ماهی‌ها جهت سازگاری با محیط حدود ۱۰ روز در حوضچه فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری با هوادهی و دوره‌ی نوری ۱۲ ساعت روشنایی و تحت دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد، میانگین اکسیژن محلول $6/3 \pm 0/3$ میلی گرم در لیتر و pH برابر با $7/2 \pm 0/4$ برای سازگاری با شرایط آزمایشگاهی قرار گرفتند. میزان دما، اکسیژن و pH توسط دستگاه مولتی متر پرتابل مدل AZ 8603 اندازه‌گیری شد. دمای مورد نیاز به وسیله‌ی بخاری آکواریوم تأمین و هوادهی نیز به وسیله‌ی پمپ هوا انجام شد. در طول مدت سازش‌دهی به طور میانگین ماهیان روزانه یکبار با غذای زنده آرتمیا تغذیه شدند (Bao et al., 2020; Mahjoubian et al., 2021).

براساس آزمایش‌های اولیه و مطالعه قبلی (Mahjoubian et al., 2023)، ماهیان گورخری (در معرض ۴ تیمار و سه تکرار مجموعاً ۱۲ مخزن) به صورت مزمن قرار گرفت که شامل یک غلظت غیرکشنده (حدود ۱۰ درصد LC_{50-96h}) نانوذرات

پژوهش برای تهیه محلول کالیبراسیون فلز روی از محلول‌های استاندارد ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر فلزات روی ساخت شرکت Chem Lab بلژیک استفاده شد. پس از رسم منحنی کالیبراسیون، اندازه‌گیری میزان فلز روی موجود در نمونه‌ها توسط دستگاه جذب اتمی از نوع سیستم کوره گرافیتی (مدل GTA 120 ساخت کشور امریکا) صورت گرفت (Sayadi et al., 2021; Mahjoubian et al., 2023).

تعیین میزان فلز روی در آب

۱۰ میلی لیتر نمونه آب از وسط تانک‌های ماهی در هر دوره نمونه برداری (در روزهای ۷، ۱۴، ۲۸ برای دوره جذب، و در روزهای ۳۵، ۴۲، ۵۶ برای دوره پاکسازی) برای اندازه‌گیری غلظت فلز روی جمع آوری شد. غلظت فلز روی در آب با استفاده از طیف سنج جذب اتمی کوره گرافیتی اندازه‌گیری شد. نمونه آب قبل از تجزیه و تحلیل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد فیلتر شد (López-Serrano et al., 2014; Mahjoubian et al., 2023).

مدل سازی توکسیکوکنتیک

برای تخمین سرعت جذب و پاکسازی و اندازه‌گیری پارامترهای مختلف توکسیکوکنتیک برای فلز روی در سه بافت مختلف ماهی گورخری در معرض تیمارهای مختلف با نانوذرات از مدل درجه اول استفاده شد (OECD, 2012; Sayadi et al., 2021). طبق این مدل ثابت سرعت جذب (k_u) به صورت زیر محاسبه شد:

اکسیدروی (۱۰ میلی گرم برلیتر) و دو غلظت توام غیرکشنده (۱۰ و ۲۰ درصد LC_{50-96h}) نانوذرات اکسیدروی + نانوذره نقره (۱۰ میلی گرم برلیتر نانوذرات اکسیدروی + ۰/۰۲ و یا ۰/۰۴ میلی گرم برلیتر نانوذرات نقره) و یک تیمار شاهد (عاری از نانوذرات) در سه تکرار قرار گرفتند (Mahjoubian et al., 2023). شرایط فیزیکی شیمیایی آب (اکسیژن، دما، pH و دوره نوری) همانند دوره سازش دهی به صورت دوره‌ای سنجش شد. نانوذرات قبل از اضافه شدن به مخازن، در بشر حاوی آب مقطر ریخته شدند و به مدت ۳۰ دقیقه توسط دستگاه اولتراسوند (مدل S300، شرکت سازنده: QSonica) سونیکیت شدند. تعویض آب ماهی‌ها در شرایط ساکن-تجدید هر ۴۸ ساعت یکبار انجام شد. نمونه گیری ماهی گورخری در روزهای (۷، ۱۴ و ۲۸) مواجهه (با تیمارهای مختلف) و در روزهای (۷، ۱۴ و ۲۸) پاکسازی (در آب سالم) برای بررسی قابلیت جذب و رهاسازی فلز روی انجام گردید و در طی این مدت با غذای زنده‌ی آرتمیا روزی یکبار (حدود ۲ درصد بیومس) تغذیه شدند (Mahjoubian et al., 2023).

تعیین میزان فلز روی در بافت‌ها (آبشش، روده و کبد)

بافت‌های کبد، آبشش و روده ماهی گورخری پس از جداسازی از چند ماهی درون میکروتیوپ قرار گرفتند و تا زمان آماده سازی برای آنالیز در فریزر و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای آماده سازی نمونه‌ها از ۲/۵ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ ۶۵٪ برای حل شدن در دمای ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد (فرجی و مشکینی، ۱۴۰۰) و حجم نهایی محلول به ۵ میلی لیتر رسانده شد. در این

نیمه عمر $(T_{1/2})$ روی در بافت‌های انتخاب شده به صورت زیر برآورد شد:

$$T_{1/2} = \frac{\ln 2}{K_d}$$

همچنین فاکتور غلظت زیستی (BCF) به صورت زیر محاسبه گردید:

$$BCF = \frac{k_u}{k_d}$$

آنالیزهای آماری

اختلاف بین داده‌ها و مقایسه میانگین نمونه‌ها در تیمارهای مختلف با آنالیز واریانس یک طرفه (One-way Anova) و دوطرفه (Two-way Anova) با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۲۱ انجام شد. بدین منظور ابتدا آزمون نرمال بودن نمونه‌ها با روش متداول Kolomogrov- Smironov (K-S) بررسی گردید. سپس آزمون آنالیز یک طرفه و دوطرفه انجام شد و توسط پس آزمون Tukey معنی داری بین تیمارها برای پارامترهای گوناگون مورد بررسی قرار گرفت. نمودارها نیز توسط نرم افزار Excel ۲۰۱۰ رسم شدند.

نتایج

خصوصیات نانوذرات تولیدشده

در الگوی پراش اشعه X نانوذرات اکسیدروی، پیک‌های نشان داده شده در زوایای ۲θ برابر با ۳۱/۹°، ۳۴/۵°، ۳۶/۵°، ۴۷/۰۶°، ۵۶/۰۸°، ۶۳/۰۵°، ۶۸/۰۱° بود (شکل ۱). همچنین، همانطور که در شکل (۱) نشان داده شده است، در طیف نانوذرات نقره، پیک‌های نشان داده شده در زوایای ۲θ برابر با ۳۸/۷°، ۴۴/۹°، ۶۵/۰°، ۷۷/۹° بود. با توجه به تصاویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی روبشی (شکل ۲) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (شکل ۳) سایز ذرات را به ترتیب در حالت جامد و مایع در جدول ۱ نشان داده شده است. همچنین

$$k_u = \frac{C_f}{C_w * t}$$

t زمان برحسب روز، C_f مقدار فلز روی در بافت برحسب میلی گرم بر کیلوگرم، C_w مقدار روی در آب برحسب میلی گرم بر لیتر
هنگامی که ماهی‌ها به آب تمیز منتقل شدند، ثابت سرعت پاکسازی (k_d) از شیب معادله پاکسازی مرتبه اول به دست آمد:

$$\ln C_f(t) = \ln C_f(0) - k_d * t$$

$C_f(0)$ غلظت فلز روی در ماهی در آغاز دوره

پاکسازی است.

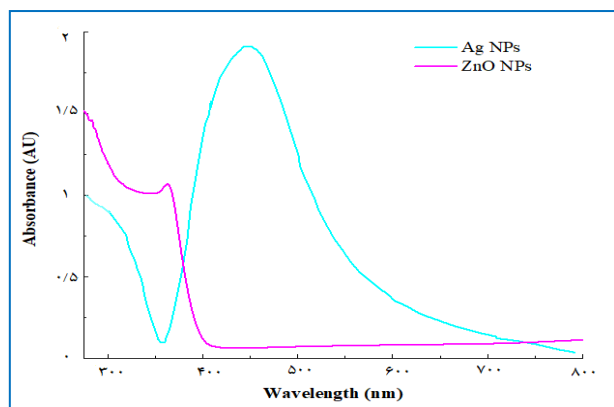
مدل فرض می‌کند که غلظت اولیه در هر یک از بافت‌های ماهی گورخری یک مقدار ثابت C_0 در زمان صفر است و در فرآیند پاکسازی شرکت نمی‌کند. معادله (۳) فاز جذب و معادله (۴) فاز پاکسازی را نشان می‌دهد.

$$Q(t) = C_0 + \frac{k_u}{k_d} * C_{exp} * (1 - e^{(-k_d * t)})$$

$$Q(t) = C_0 + \frac{k_u}{k_d} * C_{exp} * (e^{(-k_d * (t-t_0))} - e^{(-k_d * t)})$$

$Q(t)$ غلظت فلز روی در بافت برحسب میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک هر بافت در زمان نمونه برداری t است، C_0 غلظت اولیه فلز روی در بافت ماهی گورخری بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم است. k_u ثابت سرعت جذب بر حسب لیتر بر کیلوگرم در روز است، k_d ثابت نرخ پاکسازی بر حسب بر روز است، C_{exp} غلظت مواجهه در محیط بر حسب میلی گرم بر لیتر است. t_0 زمانی است که در آن موجودات زنده به آب تازه بدون آلودگی بر حسب روز منتقل شدند و t زمان نمونه برداری بر حسب روز است.

روده و کبد مشاهده گردید. همچنین در مرحله پاکسازی، سریعترین سرعت پاکسازی، به ترتیب در آبشش، روده و در نهایت کبد مشاهده شد. در مقایسه بین تیمارها در مرحله جذب، بیشترین مقدار روی در بافت‌های تیمارهای مواجهه توام مشاهده گردید، در حالی که در مرحله پاکسازی، مقدار روی در بافت‌های تیمارهای مواجهه توام کمتر از تیمار منفرد نانوذرات اکسیدروی بود. پارامترهای سرعت در تمام بافت‌ها برای فعالیت روی با استفاده از یک مدل درجه اول محاسبه شد که در جدول ۴ خلاصه شده است. بر این اساس، بیشترین و کمترین غلظت به ترتیب در بافت آبشش و کبد مشاهده شد (جدول ۴). حداقل زمان تخمین زده شده برای ماهی گورخری برای دفع نیمی از روی، ۲۰ روز و در بافت آبشش تخمین زده شد (جدول ۴).



شکل ۱: آنالیز XRD نانوذرات روی اکسید و نقره

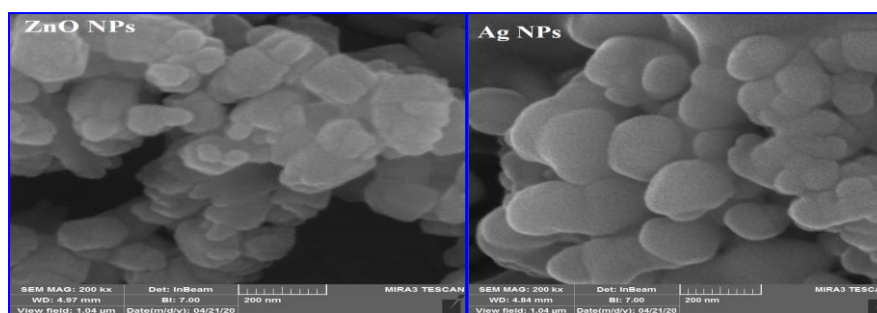
نتایج آنالیزهای تجمع (پتانسیل زتا و DLS) در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به نتایج، اندازه هیدرودینامیکی نانوذرات نقره، نانوذرات اکسیدروی و مخلوط ترکیبی نانوذرات نقره و اکسیدروی به ترتیب ۱۶۸، ۳۱۸ و ۳۹۰ نانومتر بود. همچنین نتایج شاخص پلی دیسپرسیته توزیع همگن اندازه نانوذرات $PDI < 20$ را نشان داد. افزون بر این، خصوصیات طیف سنجی نانوذرات تهیه شده با استفاده از طیف سنجی UV-vis مطالعه شد. همانطور که در شکل ۴ نشان داده شده است، پیک جذبی نانوذرات اکسیدروی در ۳۷۶ نانومتر مشاهده شد. همچنین در طیف جذبی نانوذرات نقره یک قله جذب در ۴۳۴ نانومتر دیده شد (شکل ۴).

اثرات مزمن نانوذرات بر میزان غلظت فلز روی (Zn) در بافت‌های مختلف

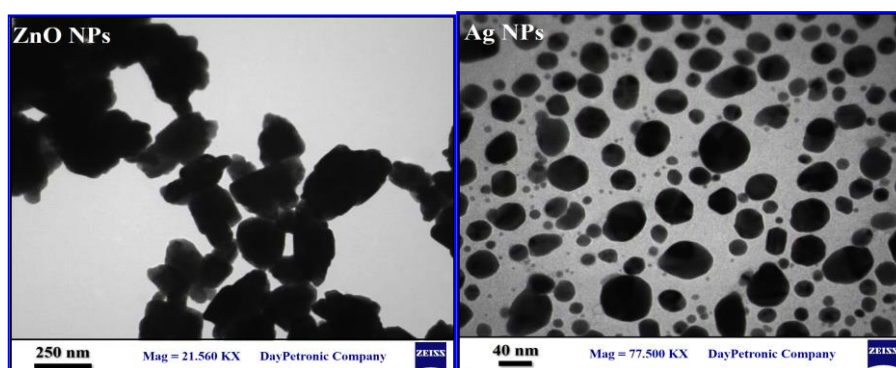
میانگین غلظت روی (Zn) در سه بافت مورد مطالعه در ماهی گورخری و در آب در طول دوره‌های مختلف مواجهه و پاکسازی به ترتیب در شکل ۵، جدول ۲ و جدول ۳ نشان داده شده است. در طول دوره مواجهه غلظت روی در بافت‌های بدن با گذشت زمان افزایش یافت و پس از ۲۸ روز به فاز پایدار رسید. نتایج آنالیز واریانس یک طرفه در دوره مواجهه نشان داد که غلظت روی در همه تیمارها در روز ۲۸ بالاتر از روزهای ۷ و ۱۴ بود (جدول ۲، $p < 0.05$). همچنین نتایج آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که غلظت روی در بافت‌ها متأثر از اثر متقابل زمان و بافت برای تمام تیمارها در طول مرحله جذب و پاکسازی بود (جدول ۲، $p < 0.05$). تفاوت در غلظت روی در بافت‌ها بین تیمارهای مختلف در جدول نشان داده شده است. بالاترین میزان جذب روی به ترتیب در بافت آبشش،

جدول ۱: خصوصیات نانوذرات در تیمارهای مورد آزمایش

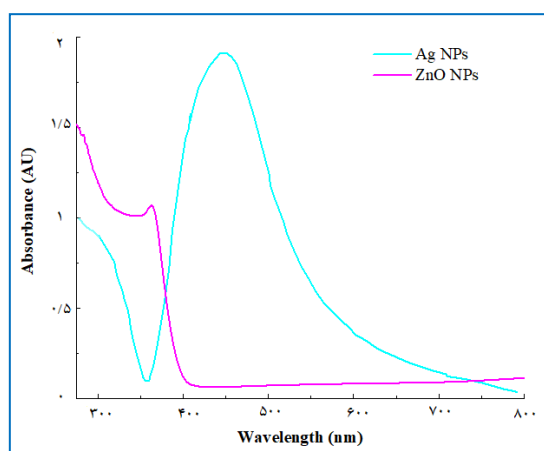
اندازه ذرات (SEM, nm)	اندازه ذرات (TEM, nm)	سایز هیدرودینامیکی (DLS, nm)	شاخص پلی دیسپرسی (PDI)	پتانسیل زتا (mV)	نانوذرات
۵±۵۵	۱۰±۲۳۵	۳۱۸/۱۹	۰/۱۱۹۷۶	۱۷/۹۴	اکسیدروی
۵±۷۴	۵±۸۰	۱۶۸/۵۴	۰/۲۱۱۶	-۱۶/۸۲	نقره
-	-	۳۹۰/۷۷	۰/۱۶۴۱	۲۹/۱۹	اکسیدروی+نقره



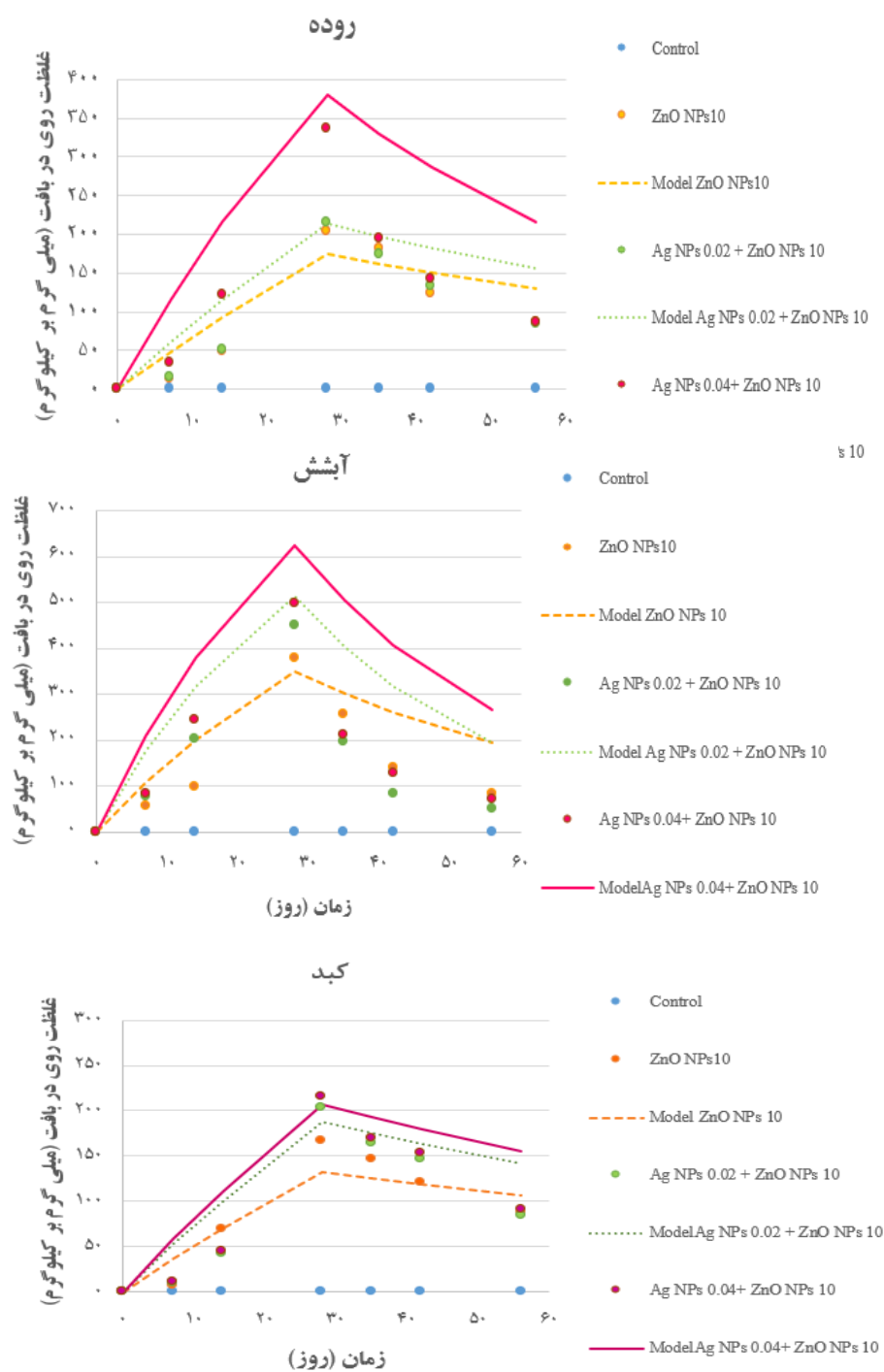
شکل ۲: تصاویر FE-SEM نانوذرات اکسیدروی و نقره



شکل ۳: تصاویر TEM نانوذرات اکسیدروی و نقره



شکل ۴: آنالیز UV-vis نانوذرات اکسیدروی و نقره



شکل ۵: سرعت جذب و دفع روی در آبش، روده و کبد ماهی گورخری در معرض نانوذرات. دایره‌ها میانگین سه غلظت روی اندازه‌گیری شده را در بافت‌های مختلف نشان می‌دهند، و خطوط نشان‌دهنده جذب و دفع پیش‌بینی شده با استفاده از مدل توکسیکوکنتیک هستند

جدول ۲: غلظت روی (میلی گرم بر کیلوگرم) در دوره‌های جذب و پاکسازی در بافت‌های مختلف ماهی

دوره پاکسازی					دوره جذب						
p-value groups*	ZnO NPs + ۰/۰۴Ag NPs	ZnO NPs + ۰/۰۲Ag NPs	ZnO NPs ۱۰	Control	p-value groups*	ZnO NPs ۰/۰۴ + Ag NPs	ZnO NPs ۰/۰۲ + Ag NPs	ZnO NPs ۱۰	Control	زمان (d)	یافت
۰	a1۰/۵۵±۲۱/۰/۳	a۵/۵۶±۱۹۵	a۴±۲۵۷	۰/۰۱±۰/۰۶	۰	a1/۱۹±۸۲/۶۳	a1±۷۶/۰/۳	a1/۳۱±۵۵/۴	۰/۰۲±۰/۰۵	۷	آپشش
۰	b1/۸۲±۱۲۸/۳	ab1±۸۳/۰/۳	b۳/۹۰±۱۳۷/۹	۰/۰۱±۰/۰۷	۰	b۲/۸۴±۲۴۶/۶	b۲/۴۶±۲۰۰/۱/۷	ab۲/۰۸±۹۷/۶۶	۰/۰۱±۰/۰۵	۱۴	
۰	c۵/۶۵±۶۹/۶۳	b۰/۳±۴/۸/۰۹	c۰/۸۰±۸۱/۸۶	۰/۰۵±۰/۰۲	۰	c۴/۸۰±۴۹۷	c۳/۵۵±۴۴۸/۷	b۵/۹۱±۳۷۸/۳	۰/۰۴±۰/۰۳	۲۸	
										p-value times*	
۰	۰/۰۰۶	۰	۰	۰/۱۷	۰	۰	۰	۰/۰۰۶	۰/۸۱		
۰	a1۲/۸۰±۱۹۴/۷	a۴/۷۲±۱۷۳/۶	a1±۱۸۱	۰/۰۳±۰/۰۸	۰/۰۰۱	a۴/۲۵±۳۳/۷	a۰/۶۰±۱۴/۷	a1/۱۳±۱۳/۷۳	۰/۰۳±۰/۰۹	۷	روده
۰	b۲/۲۵±۱۴۷/۲	b۲/۸۰±۱۳۲/۹	b۵/۲±۱۲۴/۱	۰/۰۳±۰/۰۷	۰/۰۰۱	ab۲±۱۲۲/۱	ab۲/۷۷±۵۰/۵۳	ab۲/۶۲±۴۷/۹۶	۰/۰۵±۰/۰۱	۱۴	
۰	c۰/۹۵±۸۶/۰/۳	c۰/۲۰±۸۳/۲۳	c۳/۲۱±۸۶/۳۳	۰/۰۸±۰/۰۲	۰	b1۲/۸۰±۳۳۶	b1/۸۴±۲۱۴/۷	b۳/۵۸±۲۰۳/۷	۰/۰۷±۰/۰۱	۲۸	
										p-value times*	
۰	۰	۰	۰	۰/۵۹	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۵۶		
۰	a۰/۹۰±۱۷۰	a۴/۰/۴±۱۶۴/۶	a۲/۶۴±۱۴۶	۰/۰۳±۰/۰۸	۰	a۰/۴۳±۱۱/۵	a۰/۳۶±۹/۴	a۰/۳۵±۷/۳۶	۰/۰۴±۰/۰۷	۷	کید
۰	ab1/۵۲±۱۵۲/۶	ab۲/۶۴±۱۴۶	b۲/۲۸±۱۲۱/۳	۰/۰۳±۰/۰۶	۰/۰۰۱	ab۲/۰۸±۴۴/۳۳	ab1±۴۲	ab۰/۲۶±۶۲/۱۹	۰/۰۳±۰/۰۸	۱۴	
۰	b1/۱۸±۹۰/۳۶	b1±۸۴	c۲/۰۸±۸۶/۶۶	۰/۰۷±۰/۰۳	۰	b۵/۰/۳±۲۱۵/۶	b۴/۱۶±۲۰۳/۳	b1/۷۷±۱۶۶/۸	۰/۰۷±۰/۰۳	۲۸	
										p-value times*	
۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰	۰	۰/۴۳	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۸۱		
۰/۲	۰	۰	۰	۰/۳۴	۰	۰	۰	۰	۰/۰۳	p-value tissues**	
۰	۰	۰	۰	۰/۷۸	۰	۰	۰	۰	۰/۴۵	p-value times**	
۰	۰	۰	۰	۰/۷۲	۰	۰	۰	۰	۰/۹۵	p-value tissues*times**	

علامت (*) نشان دهنده آنالیز واریانس یک طرفه و علامت (**) نشان دهنده آنالیز واریانس دو طرفه است. حروف مختلف در یک ستون نشان دهنده تفاوت های آماری معنی دار هستند ($P < 0.05$), در حالی که حروف مشابه تفاوت آماری معنی داری را نشان نمی دهند.

بحث

ویژگی های نانوذرات

خصوصیات و رفتار نانوذرات برای درک اثرات آنها در موجودات زنده و چگونگی مکانسیم سمیت آنها ضروری است. خصوصیتی مانند اندازه، ترکیب شیمیایی، مساحت سطح، حلالیت و میزان تجمع ممکن است بر سمیت کلی نانوذرات در محیط آبی موثر باشد (Vale et al., 2016). براین اساس، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانوذرات سنتز شده به روش های مختلف طیف سنجی مورد بررسی قرار گرفت. الگوی پیک های دیده شده برای نانوذرات اکسیدروی مربوط به صفحات بلوری (۱۰۰)، (۰۰۲)، (۱۰۱)، (۱۰۲)،

(۱۱۰)، (۱۰۲)، (۱۱۱) بود که با داده های کریستالوگرافی استاندارد (-JCPDS card no 1451) مطابقت داشت. همچنین، در طیف نانوذرات نقره، الگوی پیک های مشاهده شده مربوط صفحات (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰)، (۳۱۱) بود و با خطوط مرجع (CPDS file no. 04-0783) مطابقت داشت. علاوه بر این مقادیری که برای جذب نانوذرات مورد مطالعه در طیف سنجی UV-vis به دست آمد با مقادیر گزارش شده برای نانوذرات اکسیدروی (Anandan et

جدول ۳: غلظت روی (میلی گرم بر لیتر) در دوره‌های جذب و پاکسازی در تیمارهای مختلف

دوره پاکسازی				دوره جذب				زمان (d)
ZnO NPs + NPs ۰/۰۴Ag	ZnO NPs + ۰/۰۲Ag NPs	ZnO NPs ۱۰	control	ZnO NPs + ۰/۰۴Ag NPs	ZnO NPs + ۰/۰۲Ag NPs	ZnO NPs ۱۰	control	
N.D.*	N.D.*	N.D.*	N.D.*	۴±۰/۱۱	۴/۱±۰/۱۲	۴/۷±۰/۰۱	N.D.*	۷
N.D.*	N.D.*	N.D.*	N.D.*	۴/۷±۰/۰۳	۴/۸±۰/۰۳	۵/۲±۰/۰۲	N.D.*	۱۴
N.D.*	N.D.*	N.D.*	N.D.*	۵/۱±۰/۰۵	۵/۳±۰/۰۱	۶/۸±۰/۱۹	N.D.*	۲۸

*Not detected

جدول ۴: فاکتور غلظت زیستی (BCF)، ثابت سرعت جذب (k_u)، ثابت سرعت دفع (k_d)، نیمه عمر ($T_{1/2}$) ثابت روی در بافت‌های منتخب ماهی گورخری به دنبال مواجهه با نانوذرات اکسیدروی و نقره در تیمارهای مختلف آزمایشی

بافت	تیمار (mg L ⁻¹)	k_u (L kg ⁻¹ day ⁻¹)	k_d (day ⁻¹)	$T_{1/2}$ (day)	BCF (L kg ⁻¹)
آبشش	ZnO NPs ۱۰	۱/۶۴	۰/۰۲۰	۳۳/۳۱	۷۹/۲۲
	ZnO NPs + Ag ۰/۰۲ NPs	۲/۸۵	۰/۰۳۴	۲۰/۰۷	۸۲/۷۴
	ZnO NPs + Ag ۰/۰۴ NPs	۳/۳۲	۰/۰۳۰	۲۲/۶۰	۱۰۸
روده	ZnO NPs ۱۰	۰/۷۱	۰/۰۱۰	۶۸/۱۵	۷۰/۰۹
	ZnO NPs + Ag ۰/۰۲ NPs	۰/۸۹	۰/۰۱۱	۶۰/۴۳	۷۸/۰۵
	ZnO NPs + Ag ۰/۰۴ NPs	۱/۷۷	۰/۰۲۰	۳۴/۴۱	۸۸/۰۴
کبد	ZnO NPs ۱۰	۰/۵۲	۰/۰۰۷	۸۹/۹۹	۶۸/۳۰
	ZnO NPs + Ag ۰/۰۲ NPs	۰/۷۶	۰/۰۰۹	۷۰/۰۱	۷۷/۵۶
	ZnO NPs + Ag ۰/۰۴ NPs	۰/۸۵	۰/۰۱۰	۶۸/۰۹	۸۳/۵۶

این پدیده‌ای معمول است و می‌تواند به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد نانوذرات در محیط آبی باشد و بستگی به طبیعت آن‌ها دارد (Vale et al., 2016). از طرف دیگر، نانوذرات با اندازه کوچکتر به دلیل داشتن سطح بیشتر، توانایی هیدراتاسیون بیشتری دارند. از

AlMasoud et al., (2016) و نانوذرات نقره (AlMasoud et al., 2020) مطابقت داشت.

در پژوهش حاضر، با توجه به افزایش اندازه نانوذرات در محیط آبی می‌توان دریافت که تجمع نانوذرات در محیط آزمایش افزایش یافته است که البته

این‌رو نانوذرات اکسیدروی با اندازه کوچک‌تر در حالت جامد تمایل به هیدراتاسیون و ایجاد تجمع بیشتری در آب و در نتیجه اندازه بزرگتری نسبت به نانوذرات نقره در محیط آبی دارند.

مقادیر پتانسیل زتا، نه تنها برای نشان دادن مقادیر بار یون مثبت یا منفی در سطح ذرات استفاده می‌شود، بلکه به عنوان شاخصی از نیروهای جاذبه و دافعه بر روی سطوح ذرات استفاده می‌شود. در پژوهش حاضر، نانوذرات نقره و اکسیدروی به ترتیب دارای سطوح باردار منفی و مثبت بودند، بارهای سطحی سوسپانسیون های نانوذرات نقش اصلی را در تعیین پایداری ذرات در برابر تجمع در یک حلال و برهمکنش ذرات با سیستم بیولوژیکی ایفا می‌کنند (Clogston and Patri, 2011; Malvern, ۲۰۰۵)، بیان کرد که اگر نانوذرات دارای مقدار پتانسیل زتای پایینی باشند، یعنی کمتر از ۳۰ (مقادیر + یا -)، در این صورت تمایل به تجمع نانوذرات وجود خواهد داشت؛ بنابراین پراکندگی ذرات ناپایدار در نظر گرفته می‌شود. در این مطالعه، آنالیزهای انجام شده نانوذرات در محیط آبی به وضوح تمایل هر دو نانوذره را برای تشکیل تجمع نشان داد چون بارهای سطحی نانوذرات در آب برای جلوگیری از ایجاد تجمع این نانوذرات کافی نبودند.

غلظت روی در بافت‌های مختلف

غلظت روی در بافت‌های مختلف ماهی و در تیمارهای مختلف دوره مواجهه چندین برابر بیشتر از تیمار کنترل بود. این یافته با مطالعات دیگران مطابقت داشت (Bury et al., 2003; Mansouri et al., 2018; Sayadi et al., 2021). ماهی‌ها در محیط آبی دارای سیستم‌های انتقال دهنده مختلفی هستند که به حفظ

مقدار مورد نیاز فلز روی در طیف وسیعی از غلظت‌های مواجهه چه از طریق تنظیم جذب آن از رژیم غذایی خود و چه از طریق حذف این فلز توسط آبشش یا کلیه کمک می‌کنند (Bury et al., 2003). در پژوهش حاضر، پس از ۲۸ روز مواجهه بیشترین غلظت روی در بافت آبشش مشاهده گردید. این افزایش ممکن است ناشی از جذب نانوذرات اکسیدروی به طور غیرمستقیم از سطوح آبشش باشد (Sayadi et al., 2021). علاوه بر این غلظت بالای روی در آبشش را می‌توان با نقش مهم این بافت به عنوان مسیری برای جذب روی، به دلیل داشتن سطح وسیع در تماس با محیط‌های آبی و به عنوان سد بسیار نازک جداکننده محیط خارجی و داخلی در موجودات آبی توضیح داد (Murugan et al., 2008; Rajkowska and Protasowiccki, 2012). پس از آبشش، بیشترین غلظت روی، در بافت روده مشاهده شد. در واقع روده و آبشش ماهی استخوانی به عنوان دو مسیر اصلی جذب روی در نظر گرفته شدند (Glover and Hogstrand, 2003; Glover et al., 2003; Bury et al., 2003; Sappal et al., 2009). همچنین مطالعات اندکی نشان دادند که نانوذرات روی در محیط اسیدی دستگاه گوارش ماهی حلالیت بالایی از خود نشان می‌دهند و می‌توانند توسط اپیتلیوم روده جذب شوند (Shaw et al., 2012; Chupani et al., 2017). در این پژوهش، تجمع روی در کبد در مقایسه با سایر بافت‌ها کمتر بود. کبد به عنوان یکی از اندام‌های اصلی ماهی با عملکرد سم زدایی در هنگام قرار گرفتن در معرض آلودگی فلزی از طریق دفع فلز و به دلیل وجود پروتئین‌های متصل شونده به فلز شناخته می‌شوند (M'kandawire et al., 2017; Castaldo et al., 2020). علاوه بر این، اهمیت

تجمع آرسنیک در بافت‌های معده، روده و آبشش ماهی کپور معمولی شد. برخلاف مطالعات فوق، Boran و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که قرار گرفتن در معرض تیمارهای توام نانوذرات تیتانیوم دی-اکسید و جیوه باعث کاهش دسترسی زیستی غلظت جیوه برای ماهی گورخری شد.

با توجه به نتایج مطالعه حاضر در دوره پاکسازی، بافت‌های کبد و آبشش به ترتیب کمترین و بیشترین سرعت دفع روی را داشتند. کم بودن سرعت دفع روی در کبد ممکن است به دلیل اتصال فلز روی به پروتئین-های شبه متالوتیونین تولید شده در این بافت و سرانجام سم زدایی و ذخیره در این بافت باشد. از این رو، فلز روی در کبد به تدریج و به آرامی نسبت به روده و آبشش دفع می‌شود (Kaya, 2000; Kalay and Canli, 2000). همچنین دفع سریع روی در آبشش، ممکن است به این دلیل باشد که آبشش‌ها نسبت به سایر بافت‌ها بیشتر در تماس با محیط آبی هستند (Kalay and Canli, 2000). در یک مطالعه مشابه، پس از ۱۵ روز پاکسازی، گزارش شد که میزان دفع کبالت در آبشش *Capoeta fusca* بیشتر از کبد بود (Mansouri et al., 2013).

در پژوهش حاضر، نیمه عمر زیستی روی در بافت‌های مورد مطالعه از ۸۹-۲۰ روز متغیر بود. در مطالعه دیگری، نیمه عمر روی در حضور و عدم حضور نانوصفحات گرافن در مواجهه توام نانوذرات اکسیدمس و نانوصفحات گرافن از ۶۰-۷ روز متفاوت بود (Sayadi et al., 2021). این تفاوت‌ها می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع گونه، سن، سایز، مسیرهای متفاوت مواجهه (مواجهه آبی یا رژیم غذایی) و شرایط

سیتوکروم P450 و گلوکوتایون-S-ترانسفرازها برای سم‌زدایی فلزات/نانوذرات در بافت‌های ماهی توسط چندین مطالعه نشان داده شده است (Scown et al., 2010; Carvalho et al., 2012; Teles et al., 2019). در مطالعه‌ای مشابه، پس از ۲۸ روز مواجهه توام نانوذرات اکسیدروی و نانوصفحات گرافن در ماهی سیاه (*Capoeta fusca*)، گزارش شد که میزان تجمع و دفع روی در بافت کبد نسبت به سایر بافت‌ها کمتر بود (Sayadi et al., 2021).

طبق مطالعات انجام‌شده، سمیت، دسترسی زیستی و توزیع نانوذرات در موجودات زنده مانند ماهی‌ها ممکن است در حضور سایر آلاینده‌ها مانند نانوذرات متفاوت باشد و می‌تواند اثر متقابلی را در میزان جذب، دفع و همچنین سمیت آن‌ها داشته باشد (Naasz et al., 2018). همچنین در مطالعات بسیاری گزارش شده است که نانوذرات می‌توانند با سایر مواد سمی تعامل داشته باشند و در نهایت بر سرنوشت و سمیت آن‌ها تاثیر بگذارند (Vale et al., 2014; Liu et al., 2015; Farkas et al., 2017; Hernandez-Moreno et al., 2019). براساس نتایج این مطالعه، بر همکنش نانوذرات با یکدیگر بر میزان جذب و دفع روی در بافت‌های مختلف تاثیر داشت. این یافته با مطالعات دیگر سازگار بود (Mansouri et al., 2016; Naasz et al., 2018).

طبق مطالعه حاضر، وجود نانوذرات نقره باعث افزایش سرعت جذب و دفع فلز روی در ماهی گورخری شد. در مطالعه‌ای مشابه نشان دادند که جذب و دفع مس در ماهی کپور معمولی به دنبال مواجهه توام نانوذرات تیتانیوم دی-اکسید و اکسیدمس به طور قابل توجهی در تمام بافت‌ها افزایش یافت (Mansouri et al., 2016). در مطالعه دیگری، Sun و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که وجود نانوذرات تیتانیوم دی-اکسید باعث افزایش

منابع

۱. ابراهیمی، پ.، چنگیزی، ر.، قبادی، ش.، شهره، پ.، وطن دوست، ص.، ۱۳۹۹. اثرات نانو ذره آهن بر عملکرد رشد، بقاء، برخی فاکتورهای خونی - ایمنی و بافت کبد بچه ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*). نشریه توسعه آبی‌پروری، ۱۴ (۴)، ۱-۱۵.
۲. احمدی، ح.، نعیمی، ا.س.، نظر حقیقی، ف.، غفوری، ح.، ۱۳۹۵. اثرات نیمه مزمن نانوذره اکسید مس بر برخی پارامترهای خونی و بافت آبشش بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبی‌پروری، ۱۰ (۴)، ۱۴-۱.
۳. اسمعیل کاویانی، ف.، نعیمی، ا.س.، صالح زاده، ع.، ۱۳۹۶. اثرات کوتاه مدت نانوذرات اکسید روی بر شاخص‌های خونی و آنزیم‌های متابولیک بچه ماهی آزاد خزر (*Salmo trutta caspius*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۶ (۵)، ۴۳-۵۰.
۴. ضیایی نژاد، س.، دلاوریان، ر.، خاکی، ف.، جوهری، س.ع.، ۱۳۹۷. تجمع بافتی کلونید نانو ذرات نقره در بافت‌های آبشش و عضله ساقه دمی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبی‌پروری، ۱۲ (۴)، ۸۳-۹۴.
۵. فرجی، ر.، مشکینی، س.، ۱۴۰۰. بررسی میزان عناصر سنگین جیوه، مس و روی در بافت عضله و کبد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرورشی در منابع مختلف آبی استان آذربایجان غربی. نشریه توسعه آبی‌پروری، ۱۵ (۳)، ۷۵-۸۸.

غیرزیستی مختلف (مانند pH، دما، شوری و مواد آلی) باشد (Zhang et al., 2007; Pavlaki et al., 2017).

نتیجه گیری نهایی

مطالعه حاضر نشان داد استفاده از مدل توکسیکوکنتیک می‌تواند روشی مناسب در ارزیابی کمی جذب، دفع و غلظت زیستی نانوذره اکسیدروی در ماهی گورخری باشد. در این مطالعه، در دوره‌های مواجهه، بیشترین غلظت روی به ترتیب در بافت آبشش، روده و کبد مشاهده گردید. همچنین نشان داده شد که روی به ترتیب از بافت آبشش، روده و در نهایت کبد دفع می‌شود. علاوه بر این، نانوذرات نقره، جذب نانوذرات اکسیدروی را در ماهی گورخری را تسهیل کرده و باعث افزایش غلظت روی در بافت‌های مختلف شدند. در واقع مواجهه همزمان نانوذرات اکسیدروی و نقره، میزان جذب و دفع روی را در ماهی گورخری تسهیل کرد. از این رو یافته‌ها نشان داد برهمکنش‌های پیچیده‌ای در مواجهه توام نانوذرات در محیط آبی وجود دارد که میزان جذب و دفع آن‌ها را در بافت‌های مختلف ماهی گورخری تحت تاثیر قرار داده که ممکن است منجر به اثرات منفی و غیرقابل پیش‌بینی در این ماهی شود.

سپاسگزاری

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

- common carp, *Cyprinus carpio*. Aquatic toxicology, 218, 105363.
14. Chupani, L., Zusková, E., Niksirat, H., Panáček, A., Lünsmann, V., Haange, S.-B., von Bergen, M., Jehmlich, N., 2017. Effects of chronic dietary exposure of zinc oxide nanoparticles on the serum protein profile of juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.). Science of The Total Environment. 579, 1504-1511.
 15. Clogston, J.D., Patri, A.K., 2011. Zeta potential measurement. In: Characterization of nanoparticles intended for drug delivery, Springer. pp. 63-70.
 16. Fan, W., Lu, H., Wang, W-X., 2018. Aging influences on the biokinetics of functional TiO₂ nanoparticles with different surface chemistries in *Daphnia magna*. Environmental Science & Technology, 52(14), 7901-7909.
 17. Farkas, J., Salaberria, I., Styrihave, B., Staňková, R., Ciesielski, T. M., Olsen, A. J., Posch, W., Flaten, T.P., Krøkje, Å., Salvenmoser, W., Jenssen, B. M., 2017. Exposure of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) to silver nanoparticles and 17 α -ethinylestradiol mixtures: Implications for contaminant uptake and plasma steroid hormone levels, Environmental Pollution, 220, 328-336.
 18. Ghosh, M., Sinha, S., Jothiramajayam, M., Jana, A., Nag, A., Mukherjee, A., 2016. Cyto-genotoxicity and oxidative stress induced by zinc oxide nanoparticle in human lymphocyte cells in vitro and Swiss albino mice in vivo. Food and Chemical Toxicology, 97, 286-296.
 19. Glover, C.N., Bury, N.R., Hogstrand, C., 2003. Zinc uptake across the apical membrane of freshwater rainbow trout intestine is mediated by high affinity, low affinity, and histidine-facilitated pathways. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1614(2), 211-219.
 20. Glover, C.N., Hogstrand, C., 2003. Effects of dissolved metals and other hydrominerals on in vivo intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout. Aquatic toxicology, 62(4), 281-293.
 21. Haghighat, F., Kim, Y., Sourinejad, I., Yu, I.J., Johari, S.A., 2021. Titanium dioxide common carp, *Cyprinus carpio*. Aquatic toxicology, 218, 105363.
 ۶. محجوبیان، م.، نعیمی، ا.س.، ۱۳۹۷. مقایسه اثرات مزمن نانوذرات و درشت ذرات تیتانیوم دی اکسید در بافت های آبشش، کبد و روده گورخرماهی (*Danio rerio*). فصلنامه محیط زیست جانوری، ۱۰(۴)، ۳۹۵-۴۰۶.
 7. Anandan, M., Dinesh, S., Krishnakumar, N., Balamurugan, K., 2016. Tuning the crystalline size of template free hexagonal ZnO nanoparticles via precipitation synthesis towards enhanced photocatalytic performance. Journal of Materials Science: Materials in Electronics, 28(3), 2574-2585.
 8. AlMasoud, N., Alomar, T. S., Awad, M. A., El-Tohamy, M. F., Soliman, D. A., 2020. Multifunctional green silver nanoparticles in pharmaceutical and biomedical applications. Green Chemistry Letters and Reviews, 13(4), 316-327.
 9. Boran, H., Boyle, D., Altinok, I., Patsiou, D., Henry, T.B., 2016. Aqueous Hg₂⁺ associates with TiO₂ nanoparticles according to particle size, changes particle agglomeration, and becomes less bioavailable to zebrafish. Aquatic toxicology, 174, 242-246.
 10. Bury, N.R., Walker, P.A., Glover, C.N., 2003. Nutritive metal uptake in teleost fish. Journal of experimental biology, 206(1), 11-23.
 11. Bao, S., Tang, W., Fang, T., 2020. Sex-dependent and organ-specific toxicity of silver nanoparticles in livers and intestines of adult zebrafish. Chemosphere, 249, 126172.
 12. Carvalho, J.C.T., Keita, H., Santana, G.R., de Souza, G.C., Dos Santos, I.V.F., Amado, J.R.R., Kourouma, A., Prada, A.L., de Oliveira Carvalho, H., Silva, M.L., 2018. Effects of Bothrops alternatus venom in zebrafish: A histopathological study. Inflammopharmacology, 26(1), 273-284.
 13. Castaldo, G., Pillet, M., Slootmaekers, B., Bervoets, L., Town, R., Blust, R., De Boeck, G., 2020. Investigating the effects of a sub-lethal metal mixture of Cu, Zn and Cd on bioaccumulation and ionoregulation in

30. López-Serrano, A., Muñoz-Olivas, R., Sanz-Landaluze, J., Olasagasti, M., Rainieri, S., Cámara, C., 2014. Comparison of bioconcentration of ionic silver and silver nanoparticles in zebrafish eleutheroembryos. *Environmental pollution*, 191, 207-214.
31. M'kandawire, E., Mierek-Adamska, A., Stürzenbaum, S.R., Choongo, K., Yabe, J., Mwase, M., Saasa, N., Blindauer, C.A., 2017. Metallothionein from wild populations of the African Catfish *Clarias gariepinus*: from sequence, protein expression and metal binding properties to transcriptional biomarker of metal pollution. *International journal of molecular sciences*, 18(7), 1548.
32. Mansouri, B., Pourkhabbaz, A., Ebrahimpour, M., Babaei, H., Hossein Hamidian, A., 2013. Bioaccumulation and elimination rate of cobalt in *Capoeta fusca* under controlled conditions. *Chemical Speciation & Bioavailability*, 25(1), 52-56.
33. Mansouri, B., Maleki, A., Johari, S.A., Shahmoradi, B., Mohammadi, E., Shahsavari, S., Davari, B., 2016. Copper Bioaccumulation and Depuration in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Following Co-exposure to TiO₂ and CuO Nanoparticles. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 71(4), 541-552.
34. Mansouri, B., Maleki, A., Johari, S.A., Shahmoradi, B., Mohammadi, E., Davari, B., 2017. Histopathological effects of copper oxide nanoparticles on the gill and intestine of common carp (*Cyprinus carpio*) in the presence of titanium dioxide nanoparticles. *Chemistry and Ecology*, 33(4), 295-308.
35. Mansouri, B., Johari, S. A., Azadi, N. A., Sarkheil, M., 2018. Effects of waterborne ZnO nanoparticles and Zn²⁺ ions on the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): bioaccumulation, histopathological and ultrastructural changes. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18(5), 739-746.
36. Mahjoubian, M., Naeemi, A. S., Sheykhan, M., 2021. Toxicological effects of Ag₂O and Ag₂CO₃ doped TiO₂ nanoparticles and nanoparticles affect the toxicity of silver nanoparticles in common carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere*. 262,127805.
22. Hasnidawani, J.N., Azlina, H.N., Norita, H., Bonnia, N.N., Ratim, S., Ali, E.S., 2016. Synthesis of ZnO Nanostructures Using Sol-Gel Method. *Procedia Chemistry*, 19, 211-216.
23. Hernández-Moreno, D., Valdehita, A., Conde, E., Rucandio, I., Navas, J.M., Fernández-Cruz, M.L., 2019. Acute toxic effects caused by the co-exposure of nanoparticles of ZnO and Cu in rainbow trout. *Science of The Total Environment*, 687, 24-33.
24. Hua, J., Peijnenburg, W.J.G.M., Vijver, M.G., 2016. TiO₂ nanoparticles reduce the effects of ZnO nanoparticles and Zn ions on zebrafish embryos (*Danio rerio*). *NanoImpact*. 2, 45-53.
25. Impellitteri, C.A., Tolaymat, T.M., Scheckel, K.G., 2009. The speciation of silver nanoparticles in antimicrobial fabric before and after exposure to a hypochlorite/detergent solution. *Journal of environmental quality*, 38(4), 1528-1530.
26. Kalay, M., Canli, M., 2000. Elimination of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) metals from tissues of a freshwater fish *Tilapia zilli*. *Turkish Journal of Zoology*, 24(4), 429-436.
27. Kaya, H., Aydın, F., Gürkan, M., Yılmaz, S., Ates, M., Demir, V., Arslan, Z., 2016. A comparative toxicity study between small and large size zinc oxide nanoparticles in tilapia (*Oreochromis niloticus*): Organ pathologies, osmoregulatory responses and immunological parameters. *Chemosphere*, 144, 571-582.
28. Liu, L., Fan, W., Lu, H., Xiao, W., 2015. Effects of the interaction between TiO₂ with different percentages of exposed {001} facets and Cu²⁺ on biotoxicity in *Daphnia magna*. *Scientific reports*, 5(1), 1-10.
29. Lopes, S., Pinheiro, C., Soares, A.M.V.M., Loureiro, S., 2016. Joint toxicity prediction of nanoparticles and ionic counterparts: Simulating toxicity under a fate scenario. *Journal of Hazardous Materials*, 320, 1-9.

- cadmium in the marine copepod *Acartia tonsa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 145, 142-149.
47. Piccinno, F., Gottschalk, F., Seeger, S., Nowack, B., 2012. Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world. *Journal of Nanoparticle Research*, 14(9), 1109.
 48. Prabhu, S., Poulose, E.K., 2012. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2(1), 32.
 49. Rajkowska, M., Protasowicki, M., 2013. Distribution of metals (Fe, Mn, Zn, Cu) in fish tissues in two lakes of different trophic in Northwestern Poland. *Environmental monitoring and assessment*, 185(4), 3493-3502.
 50. Sappal, R., Burka, J., Dawson, S., Kamunde, C., 2009. Bioaccumulation and subcellular partitioning of zinc in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): cross-talk between waterborne and dietary uptake. *Aquatic toxicology*, 91(4), 281-290.
 51. Sayadi, M.H., Pavlaki, M.D., Martins, R., Mansouri, B., Tyler, C.R., Kharkan, J., Shekari, H., 2021. Bioaccumulation and toxicokinetics of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) co-exposed with graphene nanosheets (GNs) in the blackfish (*Capoeta fusca*). *Chemosphere*. 269, 128689.
 52. Scown, T.M., Santos, E.M., Johnston, B.D., Gaiser, B., Baalousha, M., Mitov, S., Lead, J.R., Stone, V., Fernandes, T.F., Jepson, M., 2010. Effects of aqueous exposure to silver nanoparticles of different sizes in rainbow trout. *Toxicological Sciences*, 115(2), 521-534.
 53. Shaw, B.J., Al-Bairuty, G., Handy, R.D., 2012. Effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): physiology and accumulation. *Aquatic toxicology*, 116, 90-101.
 54. Sun, H., Zhang, X., Niu, Q., Chen, Y., Crittenden, J.C., 2007. Enhanced accumulation of arsenate in carp in the presence of titanium dioxide nanoparticles. pure TiO₂ particles on zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 263, 128182.
 37. Mahjoubian, M., Naeemi, A. S., Moradi-Shoeili, Z., Tyler, C. R., & Mansouri, B., 2023. Toxicity of Silver Nanoparticles in the Presence of Zinc Oxide Nanoparticles Differs for Acute and Chronic Exposures in Zebrafish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1-17.
 38. Malvern Instruments., 2005. Zetasizer Nano Series user manual, Worcestershire-UK. Issue 2.2.
 39. Murugan, S.S., Karuppasamy, R., Poongodi, K., Puvaneswari, S., 2008. Bioaccumulation pattern of zinc in freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch.) after chronic exposure. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8(1), 55-59.
 40. Naasz, S., Altenburger, R., Kühnel, D. 2018. Environmental mixtures of nanomaterials and chemicals: The Trojan-horse phenomenon and its relevance for ecotoxicity. *Science of The Total Environment*, 635, 1170-1181.
 41. Naeemi, A.S., Elmi, F., Vaezi, G. and Ghorbankhah, M., 2020. Copper oxide nanoparticles induce oxidative stress mediated apoptosis in carp (*Cyprinus carpio*) larva. *Gene Reports*, 19, p.100676.
 42. Nidya, M., Umadevi, M., Sankar, P., Rajkumar, B.J.M., 2015. l-Glutamic acid functionalized silver nanoparticles and its nonlinear optical applications. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 26(6), 4124-4131.
 43. OECD, 2012. OECD guidelines for the testing of chemicals. In: Section 3: Degradation and accumulation test No. 305: Bioaccumulation in Fish: aqueous and dietary exposure. OECD Publishing.
 44. Pandurangan, M., Kim, D.H. 2015. In vitro toxicity of zinc oxide nanoparticles: a review. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(3), 158.
 45. Pulit-Prociak J., Banach M., 2016. Silver nanoparticles—a material of the future? *Open Chem* 14:76–91.
 46. Pavlaki, M.D., Morgado, R.G., van Gestel, C.A., Calado, R., Soares, A.M., Loureiro, S., 2017. Influence of environmental conditions on the toxicokinetics of

58. Vale, G., Mehennaoui, K., Cambier, S., Libralato, G., Jomini, S., Domingos, R.F., 2016. Manufactured nanoparticles in the aquatic environment-biochemical responses on freshwater organisms: a critical overview. *Aquatic toxicology*, 170, 162-174.
59. Ye, N., Wang, Z., Wang, S., Peijnenburg, W.J., 2018. Toxicity of mixtures of zinc oxide and graphene oxide nanoparticles to aquatic organisms of different trophic level: particles outperform dissolved ions. *Nanotoxicology*, 12(5), 423-438.
60. Zhang, L., Wang, W.X., 2007. Size-dependence of the potential for metal biomagnification in early life stages of marine fish. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 26(4), 787-794.
- Water, air, and soil pollution, 178(1), 245-254.
55. Teles, M., Reyes-López, F.E., Balasch, J.C., Tvarijonaviciute, A., Guimarães, L., Oliveira, M., Tort, L., 2019. Toxicogenomics of gold nanoparticles in a marine fish: Linkage to classical biomarkers. *Frontiers in Marine Science*, 6, 147.
56. Tong, T., Wilke, C.M., Wu, J., Binh, C.T.T., Kelly, J.J., Gaillard, J.-F., Gray, K.A., 2015. Combined Toxicity of Nano-ZnO and Nano-TiO₂: From Single- to Multinanomaterial Systems. *Environmental Science & Technology*, 49(13), 8113-8123.
57. Vale, G., Franco, C., Diniz, M.S., dos Santos, M.M., Domingos, R.F., 2014. Bioavailability of cadmium and biochemical responses on the freshwater bivalve *Corbicula fluminea*—the role of TiO₂ nanoparticles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 109, 161-168.