# بررسی اثر پنیسیلامین و EDTA بر سمیت نانو ذرات نقره در ماهی شیربت (*Tor grypus*)


## چکیده

استفاده از نانو ذرات فلزی به‌ویژه نانو ذرات نقره در آبزی‌پروری طی سال‌های اخیر توسعه زیادی یافته است. به‌طورکلی فلزات سنگین سلامت ماهیان و به دنبال آن سلامت انسان را تحت تأثیر قرار می‌دهند، بنابراین استفاده از روش‌های مختلف درمانی برای پیشگیری و درمان مسمومیت با فلزات سنگین ضروری است. یکی از روش‌های استفاده‌شده برای از بین بردن سمیت فلزات، شلاته درمانی است که به معنای استفاده از مواد شلاته کننده برای ورود به جریان خون و حذف مواد مضر از قبیل فلزات سنگین می‌باشد. لذا در این تحقیق سعی شد تا اثر دو ماده پنیسیلامین و EDTA که در شلاته درمانی مسمومیت فلزات سنگین استفاده می‌شوند و اثر آن‌ها در انسان و حیوانات خونگرم به اثبات رسیده است، در کاهش سمیت نانو ذرات نقره در ماهی بومی شیربت مشخص گردد. در این تحقیق ۲۴۰ عدد بچه ماهی شیربت (۰/۳۲ ±۴/۹۰ گرم) به ۴ تیمار (هر تیمار در سه تکرار) تقسیم شدند. تیمار اول با خوراک حاوی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر پنسیلامین و تیمار دوم با خوراک حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک، تیمار سوم با EDTA به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و تیمار کنترل با خوراک پایه بدون افزودنی به مدت ۲۱ روز تغذیه شدند. سپس سمیت حاد نانوذرات نقره (LC50 ۹۶ ساعته) در چهار تیمار با استفاده از روش OECD اندازه‌گیری و مقایسه گردید. نتایج نشان داد که سمیت نانوذرات نقره در تیمار کنترل در هر چهار مرحله زمانی تعیین سمیت (۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای تجویز پنسیلامین و EDTA بود، همچنین تیمار تغذیه‌شده با پنسیلامین (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک) بالاترین مقاومت در برابر سمیت نانونقره در هر چهار مرحله سنجش سمیت را نشان داد. به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که تجویز خوراکی این دو ماده برای پیشگیری و درمان مسمومیت با نانوذرات نقره در ماهی قابل‌استفاده بوده و کارایی پنسیلامین بیشتر از EDTA می‌باشد.


**واژگان کلیدی:** پنیسیلامین،EDTA ، نانو ذرات نقره، شیربت، سمیت.


**مجتبی علیشاهی*[۱]**
**زهرا طولابی دزفولی[۲]**
**الهام اسروش[۳]**

۱. استاد گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۲. دانشجوی دکترای بهداشت آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۳. دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

***مسئول مکاتبات:**
alishahimoj@gmail.com



تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۱۹
کد مقاله:۱۳۹۷۰۳۰۵۶۱
**این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.**


## مقدمه

فلزات سنگین عموماً از طریق فعالیت‌های صنعتی و یا درنتیجهٔ فعالیت‌های کشاورزی و معدنی وارد اکوسیستم‌های آبی می‌شوند. استفاده از نانو ذرات فلزی در سال‌های اخیر توسعه زیادی یافته است. نقره از دیرباز به‌عنوان یک فلز باقدرت ضد میکروبی بالا معروف بوده و نانو ذرات کلوئید نقره نیز از بهترین نانوذرات فلزی باقدرت ضد باکتریایی می‌باشند. هرچند نقره سمیت بالایی برای موجودات آبزی ندارد، ولی اثبات‌شده است که با کوچک شدن اندازه ذرات به حد نانو، سمیت نقره نیز افزایش‌یافته و در میزان‌های بسیار کم نیز برای موجودات آبزی سمی است (مشجور و همکاران، ۱۳۹۵). در دهه اخیر کاربرد نانو ذرات نقره در علوم مختلف ازجمله پزشکی و دامپزشکی بسیار توسعه‌یافته است. خواص ضد میکروبی نانو ذرات نقره باعث کاربرد آن در مواد، تجهیزات و حتی منسوجات پزشکی و دامپزشکی شده است (Park *et al.*, 1999). افزایش کاربرد نانو



[ Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-07-12 ]

ذرات نقره در آبزی‌پروری نیز در سال‌های اخیر قابل‌توجه بوده است؛ علی‌رغم گزارش‌های زیادی در مورد سمیت نانوذرات نقره در موجودات مختلف، تابه‌حال گزارشی از کاربرد موادی دارویی برای کاهش سمیت این مواد در آبزی‌پروری ارائه نشده است (Barr-Ilan *et al.*, 2009).

اثرات ضد میکروبی و همچنین سمیت سلولی نانو ذرات نقره به دلیل اتصال آن به غشای سلول، اتصال به گروه تیول و پروتئین‌ها، تغییر نفوذپذیری غشا، القای استرس اکسیداتیو و تداخل در عمل آنزیم‌های سلولی و آسیب‌های شدید کبدی است (Akradi *et al.*, 2012)؛ که این اثرات در موجودات غیر هدف (به‌ویژه آبزیان) باعث ایجاد نگرانی‌های زیست‌محیطی شده است (Choi *et al.*, 2010). نانو ذرات نقره همراه با گردش خون در بدن منتشرشده و ارگان‌های مختلف را درگیر می‌نمایند (Tang *et al.*, 2009)، از طرفی نانو ذرات نقره، باعث صدمه به DNA سلول و درنتیجه مرگ سلول می‌شوند (Hsin *et al.*, 2008)، لذا معرفی ترکیباتی که بتوانند اثرات سمی نانو ذرات را کاهش دهند ارزشمند و کاربردی می‌باشد.

به‌طورکلی فلزات سنگین سلامت ماهیان و به دنبال آن سلامت انسان را متأثر می‌کنند، بنابراین روش‌های علمی برای سم‌زدایی فلزات سنگین به‌منظور بهبود وضعیت ماهیان باارزش اقتصادی در شرایط استرس‌زای محیطی ضروری است. یکی از این روش‌ها استفاده از مکمل‌های غذایی است که می‌تواند منجر به بهبود سلامت ماهیان در برابر مسمومیت با فلزات سنگین شده و یا توانایی جذب آن‌ها و تسهیل دفع آن‌ها از بدن ماهیان را فراهم نماید. مکمل‌های غذایی فراوانی برای بهبود رشد، سلامت و ایمنی ماهیان وجود دارد اما پتانسیل استفاده از آن‌ها به‌منظور افزایش مقاومت در برابر استرس‌های محیطی محدود است (Abdel-Tawwab and Abbass, 2017; Dawood and Koshio, 2016).

یکی از روش‌های استفاده‌شده برای از بین بردن سمیت فلزات، شلاته درمانی (Chelation therapy) است که به معنای استفاده از مواد شلاته کننده برای ورود به جریان خون و حذف مواد مضر از قبیل فلزات سنگین می‌باشد. مواد شلاته کننده، متنوع‌ترین و مؤثرترین پادزهر برای مقابله با سمیت فلزات محسوب می‌شوند. این ترکیبات معمولاً مولکول‌های انعطاف‌پذیر با دو یا چند گروه الکتریکی با بار منفی بوده که پیوندهای کووالانسی پایداری را با اتم‌های کاتیونی فلزات تشکیل داده و سپس این کمپلکس ایجادشده از بدن خارج می‌شود. هر چه تعداد این پیوندها بیشتر باشد، مجموعه فلز و ماده شلاته کننده پایدارتر می‌گردند. اتصال مواد شلاته کننده به فلزات از طریق گروه‌های عملکردی مانند OH، SH و NH بوده که برای هماهنگی با فلز می‌توانند الکترون‌های خود را از دست بدهند (Ellenhorn and Barceloux, 1988).

پنی‌سیلامین یک سولفور آمینواسید است که از پنی‌سیلین و به‌وسیله هیدرولیز و باز شدن حلقه لاکتونی به‌دست می‌آید. این ماده ترکیبی مؤثر برای شلاته کردن فلزات سنگین مانند نقره، مس، روی، سرب و جیوه می‌باشد. همچنین این ماده ترکیب مؤثری برای جلوگیری از فرایند ارتباط متقاطع کلاژن و الاستین است (Walshe, 1968). اثرات شلاته کنندگی پنی‌سیلامین بستگی به میزان عرضه گروه سولفیدریل دارد که با فلزات سنگین برای ساخت ترکیبات حلقوی و دفع کردن آن‌ها ترکیب می‌شود. این ماده شیمیایی به‌طورمعمول در طب انسانی برای درمان مسمومیت با فلزات، به‌خصوص فلزات سنگین مثل مس، سرب و نقره استفاده می‌شود (López *et al.*, 2016).

کلسیم دی سدیم اتیلن دی آمید تترااستیک اسید (CaNa2 EDTA) یکی دیگر از مواد شلاته کننده به‌منظور جدا کردن یون‌های فلزات سنگین و کاهش اثرات آن‌ها در ماهیان محسوب می‌شود (Iranshahi *et al.*, 2011). همچنین EDTA می‌تواند به‌عنوان یک افزودنی شیمیایی سنتزی بی‌خطر برای انسان در صنایع غذایی استفاده گردد (Rowbury, 2011). این ماده شلاته کننده محلول در آب پایدار بوده که معمولاً به‌عنوان شلاتور مؤثر فلزات سنگین دو و سه‌ظرفیتی در غشاهای سلولی نفوذ کرده و می‌تواند یون‌های فلزات سنگین خارج سلولی را بیشتر از یون‌های داخل سلولی شلاته کند (Gopal *et al.*, 2009)؛ همچنین تولید رادیکال‌های آزاد را به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌دهد (Morel *et al.*, 1987). از دیگر کاربردهای EDTA در آبزی‌پروری می‌توان به استفاده از آن در پرورش متراکم لاروهای میگوهای پنائیده و برخی ماهیان دریایی به‌منظور افزایش درصد تخم گشایی و بازماندگی لاروها، بهبود قلیائیت در استخرها برای رشد بهتر پلانکتون‌ها، بهبود کیفیت آب از طریق کاهش غلظت فلزات سنگین یا سموم حشره‌کش و حفظ فلزات ضروری محلول در آب به‌منظور کشت فیتوپلانکتون‌ها اشاره کرد (Nicula *et al.*, 2013).

[ Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-07-12 ]

با توجه به افزایش کاربرد نانو ذرات نقره در صنایع مختلف به‌ویژه مواد ضدعفونی‌کننده و ضد باکتریایی، احتمال آلایندگی این مواد در منابع آبی وجود دارد. از طرفی با کاربرد این مواد در آبزیان زینتی و سیستم‌های مداربسته احتمال ایجاد مسمومیت با این مواد در آبزیان وجود دارد، لذا در این تحقیق سعی شد تا اثر دو ماده پنیسیلامین و EDTA که اثر شلاته درمانی داشته و کاهش سمیت فلزات سنگین آن‌ها در انسان و حیوانات خونگرم به اثبات رسیده است، در کاهش سمیت نانو ذرات نقره در ماهی بومی شیربت مشخص گردد.

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۲۴۰ عدد بچه ماهی شیربت (۰/۳۲ ±۴/۹ گرم) خریداری شد. این ماهی‌ها از مرکز انحصاری تکثیر ماهیان بومی دشت آزادگان واقع در حمیدیه (۲۰ کیلومتری اهواز) تهیه و با استفاده از پک‌های پلاستیکی مخصوص انتقال بچه ماهی (یک‌سوم آب و دوسوم اکسیژن خالص) به سالن آکواریوم دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردیدند. ماهی‌ها به مدت یک هفته برای سازش‌یابی با شرایط آکواریوم و خوراک دستی در مخزن ۳۰۰ لیتری نگهداری و با خوراک مخصوص ماهی کپور تغذیه گردیدند.

به‌منظور ارزیابی شرایط فیزیکو شیمیایی آب، دمای آب در دوره انجام آزمایش، ۱±۲۶ درجه سانتی‌گراد، pH =۸/۷ ، EC= ۹۲۰ میکروزیمنس بر سانتیمتر مربع، میزان اکسیژن محلول برابر ۷/۸-۶/۵ میلی‌گرم در لیتر، میزان NH3و NO2 کمتر از ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر و میزان NO3 کمتر از ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بود. از آب کلرزدایی شده برای آزمایش استفاده گردید.

از نانو ذرات نقره کلوئید تولیدی US Research Nanomaterials, Inc. کشور آمریکا استفاده گردید. این محصول حاوی نانو ذرات نقره با خلوص ۹۹/۹۹ درصد با اندازه متوسط ۲۰ نانومتر و غلظت ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. محصول به شکل مایع و با رنگ متمایل به قهوه‌ای و در بسته‌بندی یک لیتری تهیه گردید.

**شکل ۱: نمونه نانوذرات کلوئید استفاده‌شده در تحقیق.**



[ Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-07-12 ]

برای بررسی اثر پنسیلامین و EDTA خوراکی در کاهش سمیت نانوذرات نقره ۴ تیمار (هر تیمار در سه تکرار) به شرح زیر در آکواریوم‌های ۱۰۰ لیتری جداگانه در نظر گرفته شد، با توجه به اینکه در مورد پنسیلامین دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک در منابع گزارش‌شده بود در تیماربندی نیز برای هر غلظت یک تیمار در نظر گرفته شد.

تیمار اول، تغذیه‌شده با خوراک حاوی پنیسیلامین به میزان ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (سه تکرار و هر تکرار ۱۵ ماهی)

تیمار دوم، تغذیه‌شده با خوراک حاوی پنیسیلامین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (سه تکرار و هر تکرار ۱۵ ماهی)

تیمار سوم، تغذیه‌شده با خوراک حاوی EDTA به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (سه تکرار و هر تکرار ۱۵ ماهی)

تیمار چهارم، تغذیه‌شده با خوراک پایه (خوراک استاندارد کپور معمولی) بدون افزودنی

برای اضافه نمودن پنسیلامین و EDTA به خوراک، بعد از تعیین دوز موردنظر با آب مقطر به‌صورت محلول درآورده شد و بر روی خوراک پلت اسپری گردید، به‌طوری‌که این دو ماده به‌صورت کاملاً یکنواخت با خوراک مخلوط شدند. خوراک به مدت یک ساعت در فور ۴۵ درجه قرار داده شد و سپس دربسته‌های پلاستیکی بسته‌بندی‌شده و در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

برای تهیه خوراک‌های تجربی تحقیق از خوراک مخصوص کپور شرکت کیمیاگران تغذیه، ایران (SFC با ۴۰ درصد پروتئین) و به میزان روزانه ۳ درصد وزن زنده ماهی و سه بار در روز استفاده شد. ماهی‌ها به مدت سه هفته در آکواریوم‌های ۱۰۰ لیتری با خوراک‌های مخصوص هر تیمار تغذیه‌شده و سپس سمیت نانو ذرات نقره در آن‌ها ارزیابی گردید.

**جدول ۱: غلظت‌های نانوذرات نقره استفاده‌شده برای تیمارهای تحقیق به‌منظور تعیین غلظت‌های کشنده نانوذرات نقره.**

| تیمار | تعداد غلظت | غلظت نانوذرات نقره مورداستفاده (µg/L) |
|---|---|---|
| پنسیلامین ۵۰ | ۷ | صفر، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵ |
| پنسیلامین ۱۰۰ | ۸ | صفر،۱،۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵، ۴ |
| EDTA | ۷ | صفر،۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵ |
| کنترل | ۶ | صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ |

برای تعیین سمیت نانو ذرات نقره از روش استاندارد OECD (سازمان همکاری‌های اقتصادی و توسعه) راهنمای شماره ۲۰۳ ( Static-constant test condition) استفاده گردید. به این منظور ماهیان هر ۴ تیمار برای تعیین میزان مقاومت در برابر سمیت نانو ذرات نقره به‌طور جداگانه در مجاورت غلظت‌های متوالی نانوذرات نقره قرار گرفتند.

ابتدا در یک آزمایش پایلوت برای تعیین محدوده‌ی غلظت‌های سمی نانوذرات نقره مورداستفاده، از سه غلظت نانو ذرات نقره بافاصله زیاد (۰/۱، ۱ و ۵) در ماهی شیربت استفاده شد، سپس بر اساس این اطلاعات بین ۶ تا ۸ غلظت متوالی از نانوذرات نقره در نظر گرفته شد (جدول ۱)، به‌طوری‌که غلظت ایجادکننده‌ی ۱۰۰ درصد تلفات و غلظت غیر کشنده در بین این غلظت‌ها قرار گیرد. به این منظور بر اساس نتایج مرحله پایلوت ۶ تا ۸ غلظت انتخاب گردید. هر یک از غلظت‌ها در سه تکرار و هر تکرار در یک مخزن ۳۰ لیتری ایجاد گردید. هر مخزن مجهز به سیستم هوادهی بوده و شرایط فیزیکو شیمیایی آب در تمام مخازن مشابه بود. در هر مخزن ده عدد ماهی (از هر تکرار) معرفی گردید. ثبت تلفات به‌صورت روزانه (۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) انجام‌شده و سپس اقدام به تعیین LC10،LC15، LC50 و LC90 ۲۴، ۴۸،۷۲ و ۹۶ ساعته با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۹ و روش Probit گردید. در این روش از رگرسیون بین تعداد تلفات و لگاریتم غلظت نانوذرات نقره استفاده می‌شود (López *et al.*, 2016).

[ Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-07-12 ]

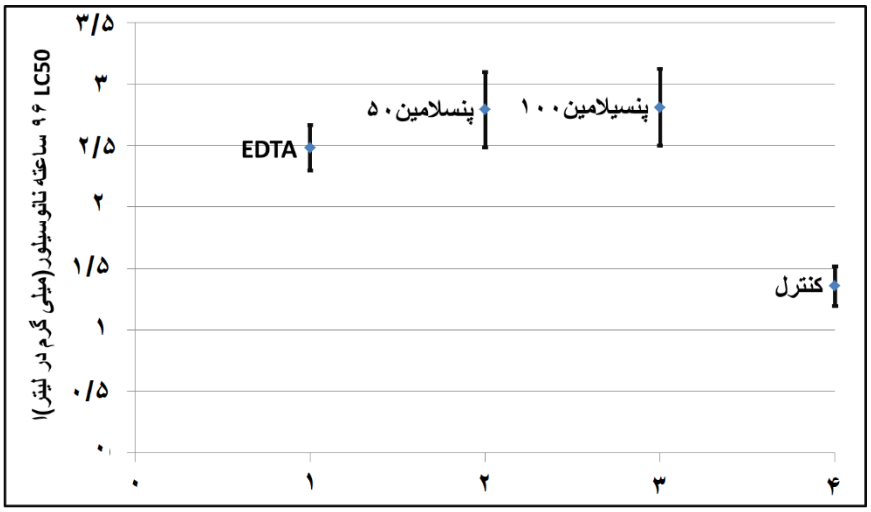
## نتایج

همانطور که در جدول ۲ و شکل ۲ مشخص است LC50 ۹۶ ساعته که معرف اصلی تعیین سمیت حاد سموم می‌باشد در مورد نانونقره در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P<0.05$). تیمار تغذیه‌شده با پنسیلامین (۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک) بالاترین میزان LC50 ۹۶ ساعته را در بین تیمارهای تحقیق داشت و هر سه تیمار تغذیه‌شده با پنسیلامین و EDTA میزان بالاتری LC50 ۹۶ ساعته را نسبت به تیمار کنترل نشان دادند.

**جدول ۲: غلظت‌های کشنده (LC10، LC20، LC50، LC90) نانونقره در ماهی شیربت تغذیه‌شده با خوراک پایه، پنسیلامین، EDTA بعد از ۲٤، ٤٨، ۷۲ و ۹٦ ساعت مجاورت.**

| دوز کشنده (mg/l) | مدت مجاورت تیمار | ۲٤ ساعت | ٤٨ ساعت | ۷۲ ساعت | ۹٦ ساعت |
|---|---|---|---|---|---|
| $LC_{10}$ | پنسیلامین ۵۰ | ۲/۸۵۳ | ۲/۸۱۷ | ۲/۳۶۶ | ۲/۳۰۵ |
| | پنسیلامین ۱۰۰ | ۲/۸۹۱ | ۲/۸۵۳ | ۲/۸۱۷ | ۲/۳۸۱ |
| | EDTA 100 | ۲/۲۸۰ | ۲/۱۸۸ | ۲/۲۷۴ | ۲/۲۰۸ |
| | کنترل | ۱/۴۶۰ | ۱/۴۶۰ | ۱/۳۷۸ | ۱/۳۳۸ |
| LC20 | پنسیلامین ۵۰ | ۳/۰۳۱ | ۲/۹۹۳ | ۲/۵۴۲ | ۲/۴۴۰ |
| | پنسیلامین ۱۰۰ | ۳/۰۷۲ | ۳/۰۳۱ | ۲/۹۹۳ | ۲/۵۲۲ |
| | EDTA 100 | ۲/۴۱۶ | ۲/۳۱۵ | ۲/۳۶۲ | ۲/۲۹۷ |
| | کنترل | ۱/۵۵۹ | ۱/۵۵۹ | ۱/۴۵۳ | ۱/۴۱۲ |
| $LC_{50}$ | پنسیلامین ۵۰ | ۳/۴۰۵ | ۳/۳۶۰ | ۲/۹۱۴ | ۲/۷۱۹ |
| | پنسیلامین ۱۰۰ | ۳/۴۵۱ | ۳/۴۰۵ | ۳/۳۶۰ | ۲/۸۱۵ |
| | EDTA 100 | ۲/۶۹۹ | ۲/۵۷۹ | ۲/۵۴۱ | ۲/۴۸۰ |
| | کنترل | ۱/۷۶۶ | ۱/۷۶۶ | ۱/۶۰۹ | ۱/۵۶۳ |
| $LC_{90}$ | پنسیلامین ۵۰ | ۴/۰۶۳ | ۴/۰۰۸ | ۳/۵۹۰ | ۳/۲۰۷ |
| | پنسیلامین ۱۰۰ | ۴/۱۲۱ | ۴/۰۶۳ | ۴/۰۰۸ | ۳/۳۲۸ |
| | EDTA 100 | ۳/۱۹۳ | ۲/۵۷۹ | ۲/۵۴۱ | ۲/۴۸۰ |
| | کنترل | ۲/۱۳۶ | ۲/۱۳۶ | ۱/۸۷۹ | ۱/۸۲۷ |

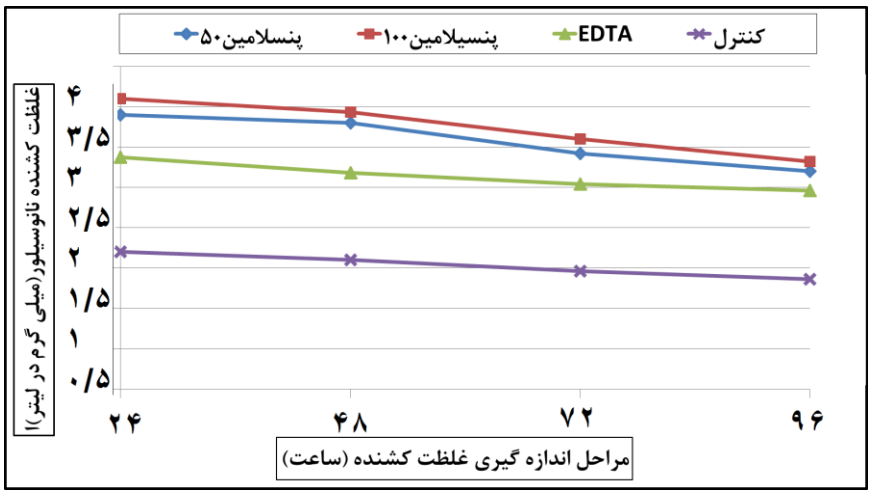
[ Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-07-12 ]




**شکل ۲: مقایسه سمیت نانو ذرات نقره در تیمار کنترل با تیمارهای تغذیه‌شده با پنسیلامین (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم درکیلوگرم) و EDTA.**

بررسی روند تغییر غلظت کشنده در همه تیمارها در مراحل مختلف اندازه‌گیری در شکل ۳ آورده شده است، سمیت نانونقره در تیمار کنترل در هر چهار مرحله تعیین سمیت (۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای تجویز پنسیلامین و EDTA می‌باشد. تیمار تغذیه‌شده با پنسیلامین (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک به مدت سه هفته) بالاترین مقاومت در برابر سمیت نانونقره در هر چهار مرحله سنجش سمیت را نشان داد. البته ماهیان تغذیه‌شده با ۵۰ میلی‌گرم پنسیلامین در کیلوگرم خوراک نیز مقاومت بالایی نسبت به ماهیان تغذیه‌شده با EDTA نشان دادند.

در همه تیمارهای موردبررسی افزایش مدت مجاورت با نانونقره (از ۲۴ به ۹۶ ساعت) افزایش سمیت (کاهش LC) را باعث گردید؛ که نشان‌دهنده حفظ ماهیت سمی نانونقره، علی‌رغم تجویز دو ماده شلاته کننده پنسیلامین و EDTA بود.




**شکل ۳: روند تغییر غلظت کشنده نانونقره در ساعات ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ در تیمارهای چهارگانه تحقیق.**

[ Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-07-12 ]

## بحث و نتیجه‌گیری

در مورد اثرات منفی نانو ذرات نقره بر محیطزیست، نظرات متفاوت بوده است، برخی محققان به علت نیمه‌عمر کم این مواد، آن را دوستدار طبیعت شناخته‌اند (Reynolds, 2001)؛ ولی Kim و همکاران در سال ۲۰۰۹ اثر منفی نانو ذرات نقره در رشد ریشه برخی گیاهان با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر را گزارش نمودند. سمیت نانو ذرات نقره در کبد و کلیه از طریق خوراکی، استنشاقی و تزریقی گزارش گردیده است (Kim *et al.*, 2009).

در تحقیق حاضر سمیت نانوذرات نقره کلوئید در ماهی شیربت ($LC_{50}$ ۹۶ ساعته) برابر ۱/۵۶۳ میلی‌گرم در لیتر بود که نشان‌دهنده سمیت بالای این ماده برای ماهی شیربت است، در مطالعه مشابه علیشاهی و همکاران (۱۳۹۰) غلظت کشنده نانوذرات نقره ($LC_{50}$ ۹۶ ساعته) در ۴ گونه ماهی کپور معمولی، برزم، افرا و گوپی را به ترتیب ۱/۱۲ و ۰/۷۸، ۵/۷ و ۷/۳۶ میلی‌گرم در لیتر گزارش نمودند. در مقایسه نتایج حاضر سمیت نانوذرات نقره در ماهی شیربت با تحقیق علیشاهی و همکاران، بیشترین مشابهت در غلظت کشنده با سمیت این ماده با ماهی کپور معمولی مشاهده گردید که با توجه به اینکه هر دو ماهی از یک خانواده (خانواده کپور ماهیان) می‌باشند، قابل پیش بینی بود. در مطالعه‌ی دیگری Soltani و همکاران (۲۰۰۹) سمیت نانوذرات نقره ($LC_{50}$ ۹۶ ساعته) در قزل آلای رنگین‌کمان را ۵ میلی‌گرم در لیتر گزارش نمودند که نشان‌دهنده مقاومت بیشتر ماهی قزل‌آلا در برابر نانوذرات نقره می‌باشد. در تحقیقی مشابه علیشاهی و مصباح (۱۳۸۹) در مقایسه سمیت نانو ذرات نقره در ماهیان آمور، شیربت، اسکار و سوروم ضمن گزارش مقاومت بیشتر ماهیان آکواریومی (اسکار و سوروم) نسبت به ماهیان پرورشی و وحشی، ماهی شیربت را حساس‌ترین گونه موردمطالعه در برابر مسمومیت با نانو ذرات نقره معرفی کردند. محققان ضمن تأیید اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نقره بر نوعی سودوموناس مفید موجود در خاک، تأکید کردند که حتی با پذیرفتن اثرات منفی این ماده بر محیطزیست، این اثرات قابل‌مقایسه با مضرات آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی ضد باکتریایی مرسوم فعلی با عملکرد مشابه نیست (Sharma *et al.*, 2009) و کاهش سمیت آن‌ها می‌تواند بر سودمندی بیشتر این مواد تأثیرگذار باشد.

نتایج تحقیق جاری نشان داد که تجویز پنسیلامین در حد ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک به‌طور معنی‌داری باعث افزایش مقاومت ماهی در برابر سمیت نانوذرات نقره گردید، به‌طوری‌که $LC_{50}$ ۹۶ ساعته نانونقره در ماهی شیربت به ۲/۸۱۵ میلی‌گرم در لیتر رسید که نشان‌دهنده کاهش سمیت این ماده (یا افزایش مقاومت ماهی در برابر این ماده) می‌باشد. از طرفی نتایج نشان داد که این افزایش مقاومت وابسته به دوز پنسیلامین بوده به‌طوری‌که تجویز ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک $LC_{50}$ ۹۶ ساعته نانوذرات نقره را به ۲/۷۱۹ رسانده است.

پنی سیلامین به‌عنوان یک داروی شلاته کننده در مسمومیت با فلزات سنگین در انسان و حیوانات خونگرم کاربرد دارد و اثر مناسب محافظت‌کنندگی پنی‌سیلامین بر استرس تنفسی و آسیب کبدی حاصل از نانو ذرات نقره در موش اثبات‌شده است (Namazi *et al.*, 2015)؛ همچنین پنی‌سیلامین با کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از فلز سنگین مس که در تشدید آلزایمر نقش دارد، به بهبود علائم آن کمک می‌کند (Rossi *et al.*, 2002). Palaniappan و همکاران (۲۰۰۸) اثر محافظت‌کننده پنسیلامین و (DMSO) Dimercaptosuccinic acid در مسمومیت با نانونقره در بافت مغز و سرم ماهی کپور بزرگ هندی را گزارش نمودند. آن‌ها به‌وسیله تکنیک FT-IR تغییراتی در پروتئین‌ها و لیپیدهای بافت مغز ماهی در اثر مسمومیت با نانونقره مشاهده کردند که با استفاده از DMSA و دی پنیسیلامین این اثرات کاهش قابل‌ملاحظه‌ای یافت. اثرات استفاده از پنسیلامین در درمان کودکان مسموم شده با دوز پایین نانونقره نتایج مثبتی در برداشته است (Shannon *et al.*, 1988).

EDTA نیز یک ماده شلاته کننده است که علاوه بر کاربردهای متعدد در علم پزشکی، به‌عنوان یک دارو در پیشگیری و درمان مسمومیت با فلزات سنگین در انسان و حیوانات خونگرم کاربرد دارد. در تحقیق حاضر نیز تجویز ۱۰۰ میلی‌گرم از این ماده در هر کیلوگرم خوراک قبل از مجاورت ماهی شیربت با نانوذرات نقره، باعث کاهش سمیت (افزایش $LC_{50}$ ۹۶ ساعته از ۱/۵۶۳در گروه کنترل به ۲/۴۸۰ در تیمار EDTA گردید) که نشان‌دهنده تأثیر EDTA در کاهش سمیت نانوذرات نقره در این ماهی است.



[ Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-07-12 ]

مطالعات محدودی در ارتباط با استفاده از این ماده در سمیت فلزات سنگین در ماهی انجام‌شده است: Shalaby و Abbassa در سال ۲۰۰۷ به اثر مثبت EDTA بر کاهش سمیت حاصل از کادمیوم در ماهی تیلاپیای نیل اشاره نمودند؛ همچنین برخی محققان ادعا نمودند که ماده EDTA می‌تواند سبب کاهش جذب کادمیوم و درنتیجه کاهش تجمع پذیری در بافت‌های ماهی و همچنین کاهش عوارض سمی ناشی از آن در ماهی آنجل شود (Iranshahi *et al.*, 2011).

در تحقیقاتی که بر روی میزان استرس اکسیداتیو و عوامل مرتبط با آن صورت گرفته است، نتایج حاصل از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پس از مواجهه ماهیان با فلزات سنگین موجود در آب متفاوت بوده است. Gopal و همکاران (۲۰۰۹) گزارش نمودند که گلوتاتیون، گلوتاتیون پراکسیداز و پراکسیداسیون لیپیدی در بافت‌های ماهیان در تیمارهای مواجهه شده با نیکل کاهش یافت ولی در تیماری که جیره غذایی حاوی EDTA دریافت کرده بود، میزان آن‌ها نزدیک به میزان طبیعی بودند، همچنین دریافتند که EDTA یک ماده شلاته کننده مؤثر برای حذف نیکل از بدن ماهیان می‌باشد. در تحقیقات دیگر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مواجهه با فلزات سنگین می‌تواند بیان‌گر محافظت بهتر در برابر سمیت ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی باشد (Leaver and George, 1998)، درحالی‌که مهار فعالیت آن‌ها می‌تواند نشان‌دهنده‌ی کاهش ظرفیت تجزیه پراکسید هیدروژن و هیدروپراکسیدهای لیپیدی تولیدشده در بافت‌ها به دلیل ایجاد استرس اکسیداتیو باشد (Ballesteros *et al.*, 2009).

نتایج مطالعه Abdel-Tawwab و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که EDTA اضافه‌شده به جیره غذایی می‌تواند از ماهیان تیلاپیای پرورشی در برابر اثرات مضر مواجهه با فلزات سنگین (سرب، کادمیوم، مس و روی) محافظت کرده و تجمع زیستی آن‌ها در بدن ماهیان را از طریق شلاته کردن یون‌های فلزی و افزایش دفع آن‌ها کاهش دهد.

در مقایسه اثر EDTA و پنسیلامین در کاهش سمیت نانوذرات نقره در ماهی شیربت مشخص شد که پنسیلامین کارایی بیشتری در کاهش سمیت نانوذرات نقره داشته، به‌طوری‌که $LC_{50}$ ۹۶ ساعته نانوذرات نقره در ماهی شیربت تغذیه‌شده با غذای حاوی پنسیلامین ۱۰۰ و EDTA به ترتیب برابر ۲/۸۱۵ و ۲/۴۸۰ بود که نشان‌دهنده کارایی بهتر پنسیلامین در کاهش سمیت نانوذرات نقره در ماهی است. به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که از این دو ماده می‌توان برای پیشگیری و کاهش سمیت، به‌ویژه در مواقعی که مجبور به استفاده از دوزهای بالای این ماده در آبزی‌پروری هستیم، استفاده کرد. همچنین می‌توان در مواقعی که قصد استفاده از نانونقره در پیشگیری و درمان بیماری‌های میکروبی در آبزی‌پروری را داریم، از این ترکیبات به‌عنوان افزودنی خوراکی برای کاهش سمیت نانونقره استفاده نمود.

## سپاسگزاری

تحقیق حاضر با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز و از محل پژوهانه نگارندگان مقاله انجام گرفت.

## منابع

**علیشاهی، م. و مصباح، م.، ۱۳۸۹.** مقایسه سمیت نانو ذرات نقره در ماهیان آمور، شیربت، اسکار و سوروم. مجله بیولوژی دریا، سال دوم، شماره ۷، صفحات ۵۱-۴۵.

**علیشاهی، م.، مصباح، م. و قربان پور، م.، ۱۳۹۰.** بررسی سمیت نانوذرات نقره در چهار گونه ماهی، مجله دامپزشکی ایران، دوره ۷، شماره ۱، صفحات ۴۱-۳۶.

**مشجور، س.، طولابی دزفولی، ز. و علیشاهی، م.، ۱۳۹۵.** سمیت حاد سوسپانسیون آبی نانوذرات نقره شیمیایی و بیوژنیک تولیدشده توسط جلبک دریایی *Sargassum boveanum* بر مدل زیستی *Artemia fransiscana* (نائوپلیوس و بالغ). مجله اکوبیولوژی تالاب، شماره ۳۰، صفحات ۹۴-۸۳.



[ Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-07-12 ]

**Abdel-Tawwab, M., El-Sayed, G. O., Monier, M. N. and Shady, S. H., 2017.** Dietary EDTA supplementation improved growth performance, biochemical variables, antioxidant response, and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) to environmental heavy metals exposure. Aquaculture, 473: 478-486.

**Akradi, L., Sohrabi-Haghdoost, I., Djeddi, A. and Mortazavi, P., 2012.** Histopathology appoptotic effect of nanosilver in liver of broiler chickens. African journal of Biotechnology, 11: 6207-6211.

**Ballesteros, M. L., Wunderlin, D. A. and Bistoni, M. A., 2009.** Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to endosulfan. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72: 199-205.

**Barr-Ilan, O., Albrecht, R. M., Fako, V.E. and Furgeson, D. Y., 2009.** Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebrafish embryos. Small Journal, 16: 1897-1910.

**Choi, J.E., Kim, S., Ahn, J.H., Youn, P., Kang, J.S., Park, K. and Yi, J., 2010.** Induction of oxidative stress and apoptosis by silver Nanoparticles in the liver of adult zebrafish. Aquatic Toxicology, 100: 151-159.

**Dawood, M. A. O. and Koshio, S., 2016.** Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: a review. Aquaculture, 454: 243–251.

**Ellenhorn, M.J. and Barceloux, D.G., 1988.** Medical Toxicology – Diagnosis and Treatment of Human Poisoning. Elsevier, New York, USA.

**Gopal, R., Narmada, S., Vijayakumar, R. and Abdul Jaleel, C., 2009.** Chelating efficacy of CaNa2 EDTA on nickel-induced toxicity in *Cirrhinus mrigala* (Ham.) through its effects on glutathione peroxidase, reduced glutathione and lipid peroxidation. Comptes Rendus Biologies, 332: 685-696.

**Hsin, Y.H., chen, C. F., Huang, S., Shih, T.S., Lai, P. S. and Chueh, P. J., 2008.** The apoptotic effect of nanosilveris mediated by a ROS- and JNK- dependent mechanism involving the mitochondrial pathway in NIH3T3 cells. Toxicology Letters, 179: 130-139.

**Iranshahi, F., Faramarzi, M., Kiaalvandi, S., Jalaee, M. H. and Dehghan, M., 2011.** Effectiveness of EDTA in mobilizing of the contaminant metal ions, especially cadmium from tissue of angel fish (*Pterophyllum scalare schultze*) subjected to chronic poisoning with cadmium acetate. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 11: 519–527.

**Kim, S., Choi, J. E., Choi, J., Chung, K. H., Park, K., Yi, J. and Ryu, D. Y., 2009**. Oxidative stress-dependent Toxicity study of silver nanoparticles in human hepatoma cells. Toxicology in vitro, 23: 1076-1084.

**Leaver, M. J. and George, S. G., 1998**. A piscidine glutathione S-transferase which efficiently conjugates the end-products of lipid peroxidation. Marine Environmental Research, 46: 71-74.

**López, G., Pagano. G. and Muratt. D. T., 2016.** Toxicological effects induced by silver nanoparticles in zebra Fish (*Danio Rerio*) and in the bacteria communities living at their surface, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 97 (4): 456–462.

**Morel, D. W., Hessler, J. R. and Chisolm, G. M., 1987.** Low-density lipoprotein cytotoxicity indeed by free radical peroxidation of lipid. Journal of Lipid Research, 24: 1070-1076.

**Namazi, F., Fazeli, M., Zolghadri, Y., Mohammadinezhad, S. and Nazifi, S., 2015.** Evaluation of protective effect of penicillamine on silver Nanoparticles-Induced Oxidative Stress in BALB/c Mice. Journal of the faculty of veterinary Medicine Istanbul University, 41: 205-211.

**Nicula, M., Dumitrescu, G., Petculescu-Ciochină, L., Bănăţean-Dunea, I., Marcu, A., Tăpălagă, I., Neo, S. and Lunca, M., 2013.** Subsequent study regarding some histopathological tissue changes related to ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) experimental exposure in Prussian Carp (*Carassius Gibelio*). Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies, 46: 265-272.

**Palaniappan, P. L., Krishnakumar, N. and Vadivelu, M., 2008.** FT-IR study of the effect of lead and influence of chelating agents, DMSA and D-penicillamine, on the biochemical contents of brain tissues of Catla Fingerlings. Aquatic Sciences, 70: 314-322.

**Park, S. H., Im, J. H., Im, J. W., Chun, B. H. and Kim, J. H., 1999**. Adsorption kinetics of Au and Ag nanoparticles on functionalized glass surfaces. Microchemical Journal, 63:71-91.

**Reynolds, G.H., 2001.** Environmental regulation of nanotechnology: Some preliminary observations. Environmental Law Reporter News and Analysis, 31: 10681-10688.

[ Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-07-12 ]

**Rossi, L., Squitti, R., Pasqualetti, P., Marchese, E., Cassetta, E., Forastiere, E., Rotilio, G., Rossini, P. M. and Finazzi-Agró, A., 2002.** Red blood cell copper, zinc superoxide dismutase activity is higher in Alzheimer's disease and is decreased by D-penicillamine. Neuroscience letters, 329(2): 137-140.

**Rowbury, R., 2011.** Miracle molecules of our age: ethylenediaminetetraacetic acid. Science Progress, 94: 232-240.

**Shalaby, A. M. and Abbassa, A. H., 2007.** Effect of EDTA on toxicity reduction of cadmium in relation to growth, Some haematological and biochemical profiles of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Fisheries and Aquatic Science, 2(2): 100-109.

**Shannon, M., Graef, J. and Lovejoy, F. H., 1988**. Efficacy and toxicity of D-penicillamine in low-level lead poisoning. The Journal of Pediatrics, 112: 799-804.

**Sharma, V. K., Yngard, R. A. and Lin, Y., 2009.** Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. Advances in Colloid and Interface Science, 145: 83-96.

**Soltani, M., Torabzadeh, N. and Soltani, A., 2009.** Toxicity of nanosilver suspension (Nanocide) in rainbow trout. First international congress on Aquatic animal health management and disease, Abstract book, p: 112.

**Tang, J., Xiong, L., Wang, J., Liu, L., Li, J., Yuan, F. and Xi, T., 2009.** Distribution, translocation and accumulation of silver nanoparticles in rates. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 9: 4924-4932.

**Walshe, J.M., 1968.** Toxic reaction to penicillamine in patients with Wilsons disease. Postgraduate Medical Journal, 44: 6-8.

[ Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-07-12 ]