ارزیابی سمیّت نفت خام بر آب سد زاینده‌رود و تصفیه‌خانه آب اصفهان با استفاده از *دافنیا مگنا* و روش زیست آزمونی

محسن سعدانی[۱] حسین موحدیان[۲] بهزاد جابریان[۳] مریم فرجی[۴] احسان ابویی[۵]

(دریافت ۸۸/۱۰/۲۳ پذیرش ۸۹/۹/۱۳)

چکیده

نفت خام یک ترکیب بسیار پیچیده و حاوی هزاران هیدروکربن با ساختار مختلف است. در این مطالعه غلظت کشنده ۵۰ درصد ایجاد شده توسط نفت خام در نمونه‌های مختلف گرفته شده از سد زاینده‌رود تا خروجی تصفیه‌خانه آب اصفهان با خصوصیات شیمیایی و فیزیکی متفاوت محاسبه شد. غلظتهای مختلف نفت خام در آب از ۵ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در بشرهای جداگانه حاوی ۱۰ عدد *دافنیا مگنا* آماده شد. تعداد *دافنیاهای* زنده بعد ٤، ٢٤ و ٤٨ ساعت در غلظتهای مختلف شمارش و ثبت گردید. نتایج نشان داد که در نمونه‌های حاوی کدورت و جامدات محلول کمتر، میزان سمیّت برای *دافنیا مگنا* بیشتر است.

واژه‌های کلیدی: نفت خام، زیست آزمونی، سمیّت، *دافنیا مگنا*.

Evaluation of Crude Oil Toxicity in Zayandehrud Dam and Water Treated from Isfahan Water Treatment Plant Using *Daphnia Magna* and Bioassay

Mohsen Sadani[1] Hossien Movahedian[2] Behzad Jaberian[3] Maryam Faraji[3] Ehsan Abooi[4]

(Received Jan. 13, 2010 Accepted Dec. 14, 2010)

Abstract

Crude oil is a very complicated composition and contains thousands of hydrocarbons with different structures. This study measured LC50 of crude oil in water samples taken from zayandehrud dam and treated water from Isfahan water treatment plant with different chemical and physical characteristics. Different crude oil concentrations (5 to 100 mg/l) were prepared in water samples that each contains ten *Daphnia*. The numbers of live Daphnia were counted 4, 24 and 48 hours after adding different crude oil concentrations. The results showed that at low turbidity and TDS, crude oil was much more toxic to *Daphnia*.

Keywords: Crude Oil, Bioassay, Toxicity, *Daphnia Magna*.

۱- مربی دانشکده پیراپزشکی ابرکوه، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید صدوقی، یزد (نویسنده مسئول) ۷۲۹۶۳۵۴ (۰۳۵۱) m_sadani@hlth.mui.ac.ir
۲- استاد گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۳- کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۴- کارشناس ارشد گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم‌پزشکی تهران، تهران

1. Instructor, School of Abarkooh Paramedical, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd (Corresponding Author) (+98 351) 7296354 m_sadani@hlth.mui.ac.ir
2. Prof. of Environmental Health Eng., Environmental Research Center Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan
3. M.Sc. of Environmental Health Eng., Environmental Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan
4. M. Sc. Of Environmental Health Eng., Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

دسترسی به آب آشامیدنی سالم برای حفظ بهداشت و سلامت انسان و نیز توسعه و پیشرفت جوامع ضروری است. کیفیت آبها معمولاً با پارامترهایی مانند pH، اکسیژن محلول و غلظت ترکیبات ویژه ارزیابی می‌گردد. این پارامترها تا حدودی می‌توانند کیفیت آب مورد مطالعه را مشخص کنند ولی نمی‌توانند اثر سوء یک ماده سمّی ورودی به اکوسیستم‌های آبهای پذیرنده را نشان دهند [۱].

استفاده از روشهای زیست آزمونی برای ارزیابی آلودگی محیطهای آبی به‌عنوان یک شاخص بسیار مهم، مورد توجه است. این گونه روشها خصوصاً در موارد آلودگی سریع یا انتشار یافته و آلاینده‌های با پتانسیل ایجاد مسمومیّت حاد در انسان، بسیار مفید هستند [۱]. در سال ۱۹۸۴ سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا[1] یک روش جامع زیست آزمونی[2] برای شناسایی آلاینده‌های سمّی و اثرات آن در محیط زیست توصیه کرده است [۲].

نفت خام یک ترکیب بسیار پیچیده و حاوی هزاران هیدروکربن با اندازه‌ها و ساختارهای گوناگون شامل هیدروکربن‌های اشباع شده، هیدروکربن‌های نرمال، آلکان‌های شاخه‌ای، آروماتیک‌ها، ترکیبات سولفوره، رزین، آسفالتن و غیره است که در صورت ورود به محیط‌های آبی می‌توانند برای موجودات آبزی سمیّت ایجاد کنند [۳].

ایران دارای شرایطی است که امکان آلوده شدن منابع آبی آن به مواد نفتی به طرق مختلف وجود دارد که نمونه آن حادثه ترکیدن لوله انتقال نفت و ورود حجم زیادی از نفت خام به رودخانه زاینده‌رود است که با این اتفاق حجم زیادی از نفت خام وارد منبع تأمین آب آشامیدنی اصفهان گردید.

ورود نفت به محیط‌های آب شیرین از طریق حوادث و تصادفات و پسابهای حاوی نفت صورت می‌گیرد. حجم نفت خام ورودی به محیط‌های آب شیرین قابل توجه بوده و گزارشها نشان می‌دهد که میزان آن در هر فصل حدود $۲/۶۵ \times ۱۰^{۶}$ و مقدارسالانه آن بیش از $۳/۳ \times ۱۰^{۷}$ لیتر تخمین زده شده است [۴ و ۵]. میزان کلی ورود پسابهای حاوی نفت به محیط $۲/۲۷ - ۵/۰۳ \times ۱۰^{۹}$ لیتر در سال برآورد گردیده است. با این وجود بر خلاف حجم و تنوع مواد نفتی رها شده به محیط‌های آب شیرین، مطالعات سم‌شناسی روی آنها نسبتاً محدود است [۶].

مطالعه کلمینسچ و همکاران[3] در سال ۱۹۹۷ سمیّت تجمعی هیدروکربن‌های نفتی را بر روی *دافنیا مگنا* نشان داد. همچنین این مطالعه اثبات کرد که در صورتی که تبخیر مشخصی در هیدروکربن‌های کوچک‌تر وجود داشته باشد، میزان سمیّت کاهش می‌یابد [۷].

مطالعه آنا و همکاران[4] در سال ۲۰۰۹ بر روی سمیّت نفت خام و مواد نفتی پالایش شده نشان داد که در آزمون سمیّت حاد، بین طول زندگی *دافنیا مگنا* و غلظت نفت خام فقط در غلظتهای بالا ارتباط معنی‌داری وجود دارد و در غلظتهای پایین نفت، ارتباط معنی‌داری مشاهده نگردید [۸].

هدف از این مطالعه اندازه‌گیری میزان سمیّت نفت خام نمونه‌های آب جمع‌آوری شده از محلهای مختلف سد زاینده‌رود تا خروجی تصفیه‌خانه آب بر روی *دافنیا مگنا* بود.

۲- مواد و روشها

روش زیست آزمونی با استفاده از در معرض قرار دادن ارگانیسم‌ها در دزهای مختلف آلوده کننده، برای ارزیابی اثرات سمیّت آنها انجام می‌گیرد. این روش به‌وسیله پایش خصوصیات و رفتارهای بیولوژیکی این ارگانیسم‌ها و مقایسه آنها با ارگانیسم‌هایی که هیچ گونه مواجهه با مواد آلوده کننده نداشته‌اند، امکان‌پذیر است.

در روش زیست آزمونی از موجودات متنوعی مثل انواع ماهی‌ها و بی‌مهرگان استفاده می‌شود. با توجه به اینکه *دافنیا مگنا* دارای زمان تولیدمثل کوتاهی است، امکان کشت آن در آزمایشگاه با کمترین امکانات وجود دارد و همچنین زمان آزمایش با *دافنیا مگنا* در مقایسه با سایر روشهای زیست آزمونی کوتاه‌تر است، امروزه استفاده از *دافنیا مگنا* در روش زیست آزمونی مورد توجه واقع شده است.

در این تحقیق *دافنیا مگنای* اولیه مورد استفاده برای کشت انبوه از مرکز پرورش ماهی شیلات اصفهان تهیه شد. از یک عدد *دافنیا مگنا* به‌منظور کشت انبوه به روش بکرزایی استفاده شد تا صفات ژنتیکی همه *دافنیاهای* مورد آزمایش یکسان باشد.

دافنیا مگنا نسبت به آبی که در آن زندگی می‌کند کاملاً حساس است. برای تولید محیط کشت بر اساس روش استاندرد باید مواد و نوترینت‌های لازم به آب مقطر اضافه گردد. بیکربنات سدیم به مقدار ۰/۱۹۲ گرم در لیتر، سولفات کلسیم به مقدار ۰/۱۲ گرم در لیتر و کلرید پتاسیم به میزان ۰/۰۰۸ گرم در لیتر مورد نیاز است. استفاده از این محیط کشت باعث می‌شود که *دافنیا مگنای* کاملاً خالص و حساس به مواد سمّی تولید شود [۹و۱۰]. برای تکثیر *دافنیا مگنا* از ظروف شیشه‌ای دهان گشاد با حجم ۵ لیتر که حاوی ۳ لیتر محیط کشت بود، استفاده شد. محیط کشت *دافنیا مگنا* به‌صورت هفتگی عوض شده و *دافنیا مگناهای* مرده از آن خارج

[1] Environmental Protection Agency (EPA)
[2] Bioassay
[3] Klimisch et al.
[4] Anna et al.

Archive of SID
www.SID.ir

می‌شد و به‌صورت ۲۴ ساعته با پمپ هوای آکواریومی و به‌صورت ملایم هوادهی می‌گردید.

کلیه مراحل تهیه، کشت و آزمون در ۲۰ درجه سلسیوس و ۱۶ ساعت روشنایی و به‌دنبال آن ۸ ساعت تاریکی انجام گردید.

مراحل آزمون سمیّت به این صورت بود که ابتداغلظتهای ۵،۱۰،۲۰،۳۰،۴۰،۵۰،۶۰،۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نفت خام در نمونه‌های آب داخل بشرهای جداگانه تهیه شده و در هر غلظت ۱۰ عدد *دافنیا مگنا* قرار داده شد. برای آزمون از *دافنیاهای* تقریباً هم اندازه و هم‌سن استفاده گردید. تعداد مرگ و میر در نمونه‌ها و غلظتهای مختلف در۴، ۲۴ و ۴۸ ساعت برای محاسبه غلظت کشنده ۵۰ درصد[1] در این ساعات شمارش و ثبت گردید.

نمونه‌برداری از آب در محلهای مختلف به‌صورت تصادفی[2] انجام شد.

روش انجام آزمایش‌ها بر اساس کتاب روشهای استاندارد و دستورالعمل شماره 821-R-02-012 سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا بود[۹و۱۰]. تجزیه و تحلیل داده‌ها و محاسبه غلظت کشنده ۵۰ درصد با استفاده از روش آماری پروبیت[3] با نرم افزار SPSS انجام گردید.

۳- نتایج و بحث

پارامترهای نشان دهنده خصوصیات فیزیکی و شیمیایی شامل اسیدیته، درجه حرارت، کدورت، جامدات محلول کل و جامدات معلق در جدول ۱ نشان داده شده است. مشاهده می‌گردد که این پارامترها در نمونه‌های مختلف، تغییرات نسبتاً زیادی دارند. تأثیر فرایندهای تصفیه بر کاهش کدورت و جامدات معلق نیز در جدول ۱ مشاهده می‌شود.

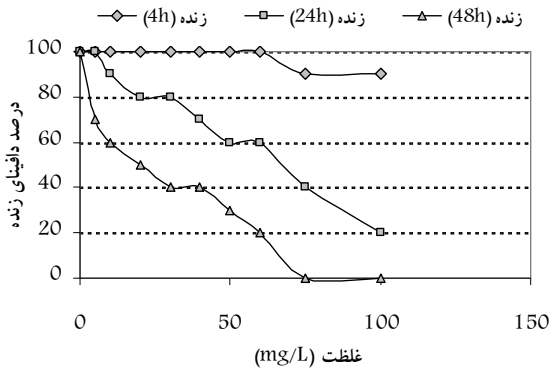
جدول ۱- خصوصیات فیزیکی- شیمیایی نمونه‌های آب مورد آزمایش

نمونه	pH	T (C°)	TDS (mg/L)	SS (mg/L)	کدورت (NTU)
سد زاینده رود	۸/۸	۱۷	۲۵۲	۱۷/۲	۱۲/۲
آبگیر چم آسمان	۸/۸	۱۶	۲۴۸	۱۷/۳	۱۱/۵
آب ورودی تصفیه خانه	۸/۱	۲۱	۲۳۵	۲/۶	۱/۷۷
بعد از کلرزنی	۸/۱	۲۱	۲۳۰	۲/۸	۰/۱۹
بعد از فیلتراسیون	۸/۴	۱۸/۸	۲۲۵	۰/۴۶	۰/۳۱

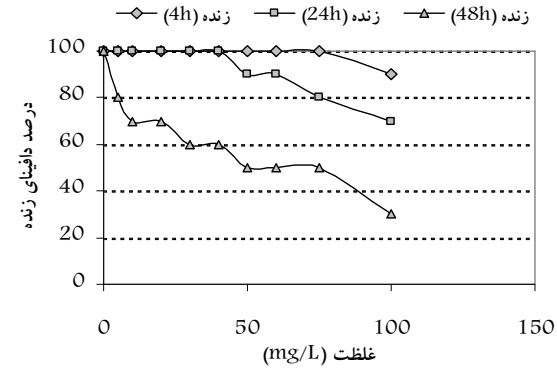
تأثیر سمیّت حاد بر ارگانیسم‌ها به‌صورت تعداد مرگ و میر یا تعداد زنده آنها در ساعات مختلف دیده می‌شود. شکل ۱ و ۲ نشان می‌دهد

[1] LC50
[2] Grab
[3] Probit

که جمعیت *دافنیا مگناها* به محدوده نسبتاً زیادی از غلظت نفت حساس است. با گذشت زمان بیشتر، درصد *دافنیا مگنای* زنده کاهش قابل توجهی را نشان می‌دهد.



شکل ۱-درصد *دافنیا مگنای* زنده مواجه شده با غلظتهای مختلف نفت خام در نمونه آب ورودی به تصفیه‌خانه



شکل ۲- درصد *دافنیا مگنای* زنده مواجه شده با غلظتهای مختلف نفت خام در نمونه آب بعد از کلر زنی

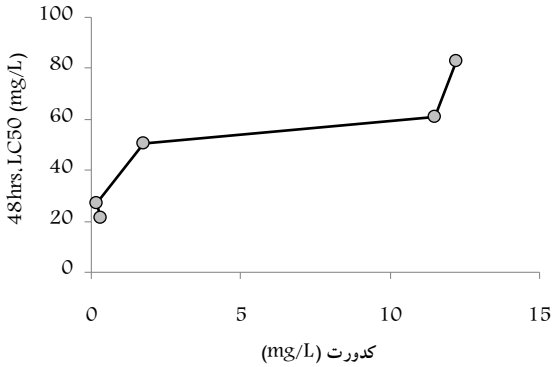
در مطالعه‌ای که توسط استیون و همکاران[4] انجام شد، سمیّت پنج نوع نفت خام بر روی چهارگونه آبزی آبهای شیرین مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اختلاف زیادی در میزان سمیّت اندازه‌گیری شده بر روی نمونه‌ها وجود دارد. فاکتورهای مؤثر بر روی این اختلافها شامل نوع نفت خام، اختلاف بین محصولات به‌دست آمده از یک نوع خاص نفت، روش وارد کردن نفت به سیستم، تغییر طبیعت نفت با زمان، زمان مواجه شدن ارگانیسم‌ها با مواد نفتی و نوع ارگانیسم مورد مطالعه برای آزمون سمیّت و همچنین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه آب استفاده شده در آزمایش بیان شده است [۱۱].

[4] Esteven et al.

Archive of SID
www.SID.ir

فاکتور متغیر در این مطالعه، نمونه آب بود و مشاهده شد که مثلاً درصد زنده بعد از ۴۸ ساعت در نمونه آب ورودی به تصفیه‌خانه و نمونه بعد از کلرزنی کاملاً متفاوت است (شکل ۱و۲) . بر اساس میزان مرگ و میر ثبت شده در ساعات مختلف، غلظت کشنده ۵۰ درصد *دافنیا مگنا* برای نمونه‌های مختلف محاسبه شده و نتایج آن در جدول ۲ آورده شده است.

همانطور که مشاهده می‌گردد سمیّت نفت خام در نمونه‌های مختلف متفاوت است. ارتباط بین کدورت نمونه‌ها با میزان غلظت کشنده ۵۰ درصد ۴۸ ساعته در شکل ۳ نشان داده شده است.

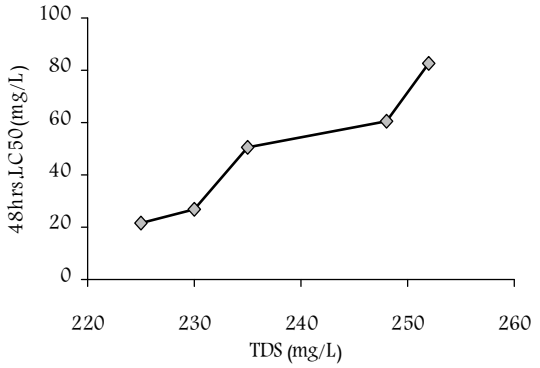


شکل ۳- تغییر میزان LC50 48 با تغییرات کدورت نمونه ها

مشاهده می‌شود که با افزایش میزان کدورت نمونه‌ها، سمیت کاهش می‌یابد. مثلاً غلظت کشنده ۵۰ درصد ۴۸ ساعته در نمونه با کدورت ۰/۳۱ برابر با ۲۱/۴۱ بوده ولی با زمان مشابه برای نمونه با کدورت ۱۲/۲ برابر با ۸۲/۶ میلی‌گرم در لیتر است.

مواد ایجاد کننده کدورت، سطحی برای جذب هیدروکربن‌های نامحلول مسبب سمیّت ایجاد کرده و باعث می‌شوند که اثر آنها بر *دافنیا مگنا* کاهش یابد. مطالعات گذشته نشان دادند که ذرات معلق موجود در آب دارای بار منفی بوده و می‌توانند آلاینده‌های دارای بار مثبت مانند فلزات سنگین را به خود جذب نمایند [۱۲]. مطالعات دیگر نشان دادند که این مواد می‌توانند مقدار تأثیرگذار بر ارگانیسم‌های آبزی را نیز کاهش دهند[۱۳] .

در شکل ۴ ارتباط بین غلظت کشنده ۵۰ درصد ۴۸ ساعته با کل جامدات محلول نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌گردد، با افزایش میزان ترکیبات محلول در نمونه‌ها، میزان سمیّت بر *دافنیا مگنا* کاهش می‌یابد. مثلاً نمونه حاوی جامدات کل محلول ۲۲۵ دارای غلظت کشنده ۵۰ درصد ۴۸ ساعته برابر با ۲۱/۴۱ میلی‌گرم در لیتر است در حالی که میزان غلظت کشنده ۵۰ درصد ۴۸ ساعته برای نمونه حاوی جامدات کل محلول ۲۵۲ برابر با ۸۲/۶ میلی‌گرم در لیتر است. دلیل این امر این است که افزایش مقدار جامدات کل محلول، می‌تواند حلالیت هیدروکربن‌های آلی را کاهش دهد و با کاهش حلالیت، میزان هیدروکربن رسیده به *دافنیا مگنا* کاهش می‌یابد.



شکل ۴- تغییر میزان LC50 48 با تغییرات TDS نمونه‌ها

مطالعه مک اولایف و همکاران[1] نشان داد که حلالیت هیدروکربن‌های نفت خام در نمونه‌های حاوی ۵ و ۱۰ درصد کلرید سدیم تقریباً ۷۰ و ۱۶ درصد حلالیت آنها در آب مقطر است[۱۴].

نتایج مطالعه ساتان و همکاران[2] درباره حلالیت ۱۲ هیدروکربن حلقوی نشان داد که حلالیت آنها در آب دریا در ۲۵ درجه سلسیوس ۶۸ درصد آب شیرین است [۱۵]. همانطور که مشاهده می‌گردد این نتایج با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. دلیل دیگر قابل ذکر برای کاهش سمیّت با افزایش مقدار مواد محلول، مربوط به فشار اسمزی است که یکی از عوامل مؤثر در میزان هیدروکربن‌های جذب شده توسط *دافنیا مگنا* است. مقدار مواد محلول در آب، بر میزان فشار اسمزی آن تأثیر قابل توجهی دارد.

جدول۲- میزان غلظت کشنده ۵۰ درصد ۲۴ و ۴ ساعته نفت خام در نمونه‌های آب نقاط مختلف

نمونه آب مورد آزمایش	LC50 ۴ ساعته (mg/L)	LC50 ۲۴ ساعته (mg/L)	LC50 ۴۸ ساعته (mg/L)
سد زاینده رود	۱۱۹	۱۱۸	۸۲/۶
آبگیرچم آسمان	۱۱۸	۱۱۳	۶۰/۷۵
آب ورودی تصفیه خانه	۱۲۷	۹۱/۸	۵۰/۴۳
بعد از کلرزنی	۱۳۹/۷	۶۴/۵	۲۷/۰۳
بعد از فیلتراسیون	۱۱۱/۳	۵۷/۲	۲۱/۴۱

[1] Mc. Auliffe et al.
[2] Stton et al.

Archive of SID
www.SID.ir

۴- نتیجه‌گیری

هر چه زمان تماس بین نفت خام و *دافنیا مگنا* بالاتر باشد، اثر سمیّت آن به‌سرعت افزایش می‌یابد، در نتیجه در حوادث ورود نفت خام به محیط‌های آبی، اقدامات به‌موقع و سریع می‌تواند به مقدار زیادی در کنترل اثرات سوء نفت خام بر ارگانیسم‌های زنده، مؤثر واقع گردد. همچنین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های آب آلوده به مواد نفتی می‌تواند بر میزان سمیّت ایجاد شده توسط آنها بر *دافنیا مگنا* مؤثر باشد. در هنگام بروز حوادث و همچنین در انجام آزمایش‌ها روش زیست آزمونی باید مورد توجه قرار گیرد.

۵- مراجع

1- Nadafi, k. (1995). "Bioassay with micro organism, review article." *Shahid Sadoghi Yazd Medical Science University Journal*, 22, 18 -22. (In Persian)

2- Maleki, A., Mahvi, A. H., and Naddafi, K. (2007). "Bioassay of phenol and its intermediate products using daphnia Magna." *J. of Water and Wastewater*, 66, 19-24. (In Persian)

3- Martnez-Jernimo, F., and Villase cor, R. (2005). "Toxicity of the crude oil water-soluble fraction and kaolin-adsorbed *Daphnia magna*." *Arch. Environ. Contam. Toxicol*, 48, 444- 449.

4- De Witt, F.A. (1974). *Oil spill and oil pollution reports*, U.S. Environmental Protection Agency Report No. EPA-670/2 75-003, Washington, D.C.

5- Council on Environmental Quality. (1972). *Environmental quality-the third annual report of the council on environmental quality*, U.S. Government Printing Office, Washington, DC.

6- USEPA. (1974). *Report to congress, waste oil study*, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.

7- Klimisch, H. J., and Andereae, M. (1997). *American petroleum institute*, CAS No. 8002-05-, pp. 5-10.

8- Anna, A.(2009). "Toxicity of oil and products of its refinement to *daphnia magna*: Time and temperature dependences." *American-Eurasian J. Agric. and Environ. Sci*., 5 (4), 545-549.

9- APHA, AWWA, WEF. (1995). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 19th Ed., Washington, D.C.

10- USEPA. (2002). *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*, 5th Ed., US. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.

11- Steven, F., Hedtke, F., and Puglisi A. (1982). "Short-term toxicity of five oils to four freshwater species." *Arch. Invironm, Contam. Toxicol*, 11, 425- 430.

12- Weltens, R., and Goossens, R. (2000). "Ecotoxicity of contaminated suspended solids for filter feeders (*Daphnia magna*)." *Arch. Environ. Contam. Toxico*, 39, 315- 323.

13- Heemken, O.P., and Stachel, B. (2000). "Temporal variability of organic micro pollutants in suspended particulate matter of the river Elbe at Hamburg and the river Mulde at Dessau, Germany." *Arch. Environ. Contam. Toxicol*., 38, 1-31.

14- Mc Auliffe, C.D. (1987). *Organism exposure to volatile soluble hydrocarbons from crude oil spills*, Oil e. American Petroleum Industry, Washington, D.C.

15- Sutton, C., and Calder, J.A. (1975). "Solubility of alkyl benzenes in distilled water and seawater at 5C." *J. of Chem. Engine. Data*, 20, 320-332.

Archive of SID

www.SID.ir