



## بررسی تاثیر شوینده‌ها بر مرگ و میر دافنی ماگنا (*Daphnia magna*)

دکتر محمد پیری - مهندس مریم فلاحي

مؤسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران

بخش بیولوژی، مرکز تحقیقات شیلاتی استان کیلان - بندر انزلی، صندوق پستی ۶۶

### چکیده

دافنی آب شیرین (*Daphnia magna*) یک روزه به مدت ۲۴ ساعت تحت تاثیر شوینده‌ها قرار گرفت. شوینده‌های انتخاب شده شامل دو مایع ظرفشویی، دو پودر لباسشویی و یک پودر ماشین لباسشویی و یک شامپو بود. بطور کلی مایع‌های ظرفشویی اثر بیشتری در مرگ و میر دافنی نسبت به پودرها و شامپو داشته و یک نوع از آن با دارا بودن ۱۷ درصد آلکیل بنزن سولفونات‌های خطی و ۵ درصد دی اتانول آمین و دو درصد لوریک اسید اتانول آمین اثرات شدیدتری بر دافنی مذکور برجای می‌گذارند، حد مجاز این مایع ظرفشویی ۴/۷ و  $EC_{50}$  آن ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر است، بررسی‌های سال ۱۳۷۲ میزان آلکیل بنزن سولفونات‌های خطی را در برخی نقاط تالاب انزلی ۸/۹ میلی‌گرم در لیتر نشان داده است. بنابراین می‌توان گفت که مقادیر موجود آلکیل بنزن سولفونات‌های خطی در برخی نقاط تالاب انزلی بیش از حد مجاز است. در بین پودرها در ماشین لباسشویی خاصیت کشندگی کمتری داشت ( $EC_{50} = 50/9$ ) و از میان شش شوینده، شامپو کمترین اثر را در مرگ و میر دافنی داشت ( $EC_{50} = 52$ ). ضریب همبستگی بین لگاریتم غلظت شوینده‌ها و میزان مرگ و میر دافنی از ۷۹ تا ۹۹ درصد بود.



## مقدمه

امروزه شوینده‌های مصنوعی بدلیل مصرف زیادشان بسیار مهم بوده و موجودات آبی را با خطر آلودگی مواجه می‌نماید (Able, 1974; Chattopadhyay & Konar, 1985(a); این شوینده‌ها ممکن است توسط باکتریهای خطی تجزیه شوند اما در غلظت‌های زیاد ممکن است باکتریها نتوانند نقش خود را ایفا نمایند زیرا غلظت زیاد شوینده‌ها مانع عمل آنزیمهای باکتریها می‌شود، این آنزیمها برای تجزیه یا کاهش اثر شوینده‌ها ضروری هستند (Dakay & kikodemusz, 1981). تجزیه بیولوژیک شوینده‌ها در آلودگیهای زیاد بعضی اوقات غیرممکن می‌باشد (Chattopadhyay & Konar, 1991). شوینده‌ها یکی از آلاینده‌های مهم بوده و توسط فاضلابها به آبهای ساحلی و همچنین بطور مستقیم یا غیرمستقیم به داخل خورها یا اکوسیستم‌های آبی وارد و در کنار فاضلابهای صنعتی از منابع دیگر آلودگی هستند که از شستشوی ظروف و قایقها حاصل می‌گردند (Konar & Mullick, 1993).

طبق آمار مصرف سرانه شوینده‌ها در سوئیس به ۹ کیلوگرم در سال می‌رسد و این ۹ کیلوگرم حاوی ۰/۵ کیلوگرم فسفر است که از این راه وارد فاضلابهای خانگی گشته و به فسفر ناشی از فضولات انسانی اضافه می‌گردد (مهندسین مشاور یکم، ۱۳۶۷). طبق اطلاعات صنایع ملی ایران بیش از ۹۵ درصد شوینده‌های مورد مصرف در ایران به فرم آنیونی و اکلیل بنزن سولفوناته‌های خطی (LAS) هستند (مؤسسه استاندارد، بی تا ۴). در سالهای ۱۹۸۹ مصرف LAS در اروپای غربی ۴۸۵ هزار تن بوده است که چنین مصرف بالایی موجب شده است که با وجود امکان تجزیه بیوشیمیایی LAS توسط موجودات ذره‌بینی مقدار آنها در محیط زیست افزایش یابد و صدمات جبران‌ناپذیری را بر محیط زیست وارد سازد (اشرف خراسانی، ۱۳۷۲).

تالاب انزلی یکی از بزرگترین و بارورترین تالابهای ایران است که نقش بسزایی را در پشتیبانی از ذخایر ماهیان دریای مازندران بعهدہ دارد. با توجه به تراکم زیاد جمعیت و وجود مراکز شهری و صنعتی در سواحل این تالاب و رودخانه‌های مربوط به آن، جمعیت انبوه و صنایع پس‌آبهای خود را که محتوی مقادیر زیادی از شوینده‌هاست وارد این اکوسیستم می‌نمایند و می‌تواند تاثیرات بسیاری بر تغییر جمعیت و بیوماس ارگانیس‌م‌های آبی از جمله پلانکتونها داشته باشد. افزایش



مصرف پاک کننده‌های خانگی در دو دهه اخیر سبب نگرانی شده و برآورد میزان این شوینده‌ها در حوزه‌ها و مناطق مختلف تالاب انزلی از وظایفی است که باید انجام پذیرد. لذا اشرف خراسانی (۱۳۷۲) اقدام به مطالعه و بررسی میزان LAS در برخی نقاط تالاب انزلی نمود. پژوهش در مورد اثر شوینده‌ها بر روی موجودات تالاب انزلی ضروری است. تحقیق حاضر به بررسی اثر ۶ ماده شوینده بر روی مرگ و میر گونه *Daphnia magna* پرداخته است.

## مواد و روشها

جهت اجرای پروژه دو مایع ظرفشویی، دو پودر لباسشویی، یک پودر ماشین لباسشویی و یک شامپو که از مصرف بالایی در داخل کشور برخوردارند انتخاب گردیدند. فرمولاسیون شوینده‌های مورد آزمایش در جدول ۱ آمده است. این شوینده‌ها همگی در فرم آنیونی بودند. در آزمایشات بررسی اثر شوینده‌ها بر مرگ و میر دافنی ماگنا از روش (1984) TRC استفاده گردید. جهت انجام این آزمایشات ابتدا غلظت‌های مورد آزمایش طبق محاسبات لگاریتمی به چندین تیمار تقسیم و به داخل بشرهایی که حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر بودند اضافه گردیدند. یک بشر نیز بعنوان شاهد انتخاب شد که عاری از شوینده بود. سپس به هر یک از بشرها ۱۰ عدد دافنی ماگنا یک روزه افزوده شد و پس از ۲۴ ساعت میزان مرگ و میر محاسبه گردید. پس از کسب غلظت مورد نظر جهت مرگ و میر دافنی آزمایش مجدداً در ۳ تکرار انجام و میانگین مرگ و میر دافنی در دُزهای مختلف شوینده‌ها تعیین گردید. داده‌های حاصله با استفاده از روش Probit analysis (Finney, 1971) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و  $EC_{10}$ ،  $EC_{50}$  و  $EC_{90}$  برآورد شد. با استفاده از نرم‌افزارهای Statgraphics و Quattro pro خط رگرسیون و ضریب همبستگی داده‌ها محاسبه گردید.

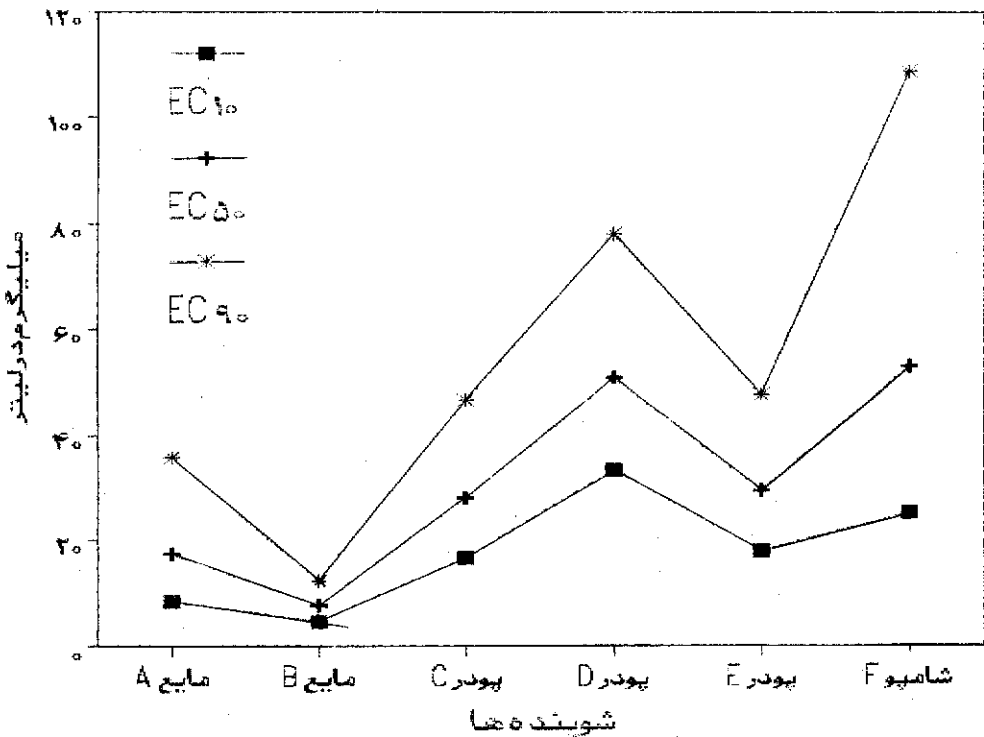
## نتایج و بحث

نتایج حاصله از این بررسیها نشان داد که هر دو مایع ظرفشویی طبق جدول شماره ۱ تقریباً دارای مقادیر یکسانی نمک سدیم آلکیل بنزن سولفونات (LABS - Na) می‌باشند اما مایع



ظرفشویی که ۵ درصد دی اتانول آمین و ۲ درصد لوریک اسید اتانول آمید دارد اثر بیشتری در مرگ و میر دافنی ماگنا داشت. پودرهای لباسشویی تقریباً تفاوت زیادی از نظر اثر بر مرگ و میر دافنی نداشته ولی پودر ماشین لباسشویی که از ماده مؤثر کمتری (۱۰ درصد Na - LABS) برخوردار بود نسبت به دو پودر دیگر خطر کمتری برای دافنی داشت. شامپوی مورد آزمایش نیز که از میزان ماده مؤثر کمی برخوردار بود نسبت به سایر شوینده‌ها اثر کمتری بر مرگ و میر دافنی داشت (شکل ۱).

آزمایشات نشان داد که مایع‌های ظرفشویی تاثیری بیش از پودرها و شامپو بر مرگ و میر دافنی ماگنا دارند. با دریافت درصد مواد تشکیل دهنده این شوینده‌ها از شرکتهای ذیربط مشخص گردید که میزان Na - LABS در مایع‌های ظرفشویی کمتر از پودرها می‌باشد (جدول ۱).



شکل ۱: نمودار نتایج اثر شوینده‌ها بر روی *Daphnia magna*



جدول ۱: فرمولاسیون شوینده‌های مورد آزمایش (ارقام به درصد)

شامپو	پودر لباشوئی	پودر ماشین لباشوئی	پودر لباشوئی	مایع ظرفشوئی	مایع ظرفشوئی	اجزاء تشکیل دهنده
F	E	D	C	B	A	
۱۲	۲۰-۲۲	۱۰	۱۹	۱۷	۱۷	LABS-Na <sup>(۱)</sup> = LABS <sup>(۲)</sup>
-	-	۵	-	-	-	NPE (9EO) <sup>(۳)</sup>
-	-	۴	-	-	-	SOAP (TALLOW)
-	۷-۸	۶	۷	-	-	Sodium silicate
-	-	۱۵	-	-	-	Sodium perborate
-	-	۹	۲۷	-	-	Sodium sulphate
-	-	۵	-	-	-	Sodium carbonate
-	۳۰-۳۳	۳۴	۳۲	-	-	STPP <sup>(۴)</sup>
-	۱	۱/۵	۱/۲	-	-	CMC <sup>(۵)</sup>
-	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	-	-	Optical (CBS.X)
++	+++	+++	+++	++	++	Perfume
-	-	-	-	۵	-	D.E.A <sup>(۶)</sup>
-	-	-	-	۲	-	Loramide <sup>(۷)</sup> /Cocamide
۲	-	-	-	۰/۲۷	۰/۵	NaOH
-	-	-	-	۰/۱	۰/۲	Formaldehyde
-	-	-	-	-	۵	Urea
۱۲/۵	-	-	-	-	۲/۵	کوکونات دی اتانول آمین
۰/۷	-	-	-	-	-	E.D.T.A <sup>(۸)</sup>
۱	-	-	-	-	-	Lisitin
۰/۱	-	-	-	-	-	اسید سیتریک Kiton
برحسب نیاز	-	-	-	-	-	pH = ۷
H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	Balanceto %۱۰۰

LABS - Na<sup>(۱)</sup> = نمک سدیم آلکیل بنزن سولفوناتLABS<sup>(۲)</sup> = آلکیل بنزن سولفونات خطیNPE (9EO)<sup>(۳)</sup> = نونیل فنل اتوکسیلاتSTPP<sup>(۴)</sup> = سدیم تری پلی فسفاتCMC<sup>(۵)</sup> = کربوکسی متیل سلولز      ++ = متوسط      +++ = زیاد      - = فاقد بودنD.E.A<sup>(۶)</sup> = دی اتیل آمینLoramide<sup>(۷)</sup> = لوریک اسید اتانول آمیدE.D.T.A<sup>(۸)</sup> = اتیلن دی آمین تترااستیک اسید



بررسیهای لازم در زمینه اختلاف بین اجزاء تشکیل دهنده مایع‌ها و پودرهای شوینده بعمل آمد و معلوم گردید که مایع‌های ظرفشویی دارای مقداری فرمالین D.E.A (دی اتانول آمین) و Loramide (لوریک اسید اتانول آمید) بوده که سایر شوینده‌ها فاقد این مواد می‌باشند. غلظت مجاز مایع ظرفشویی برای دافنی ماگنا در حدود ۴/۷ میلی‌گرم در لیتر و میزان ماده مؤثر LABS-Na آن ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر بود. EC ۵۰ و EC ۹۰ آن طبق شکل ۱ به ترتیب ۷/۵ و ۱۲/۵ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد که کمترین مقدار در مقایسه با سایر شوینده‌ها بود و شامپوی مورد آزمایش EC ۵۰ و EC ۹۰ بیشتری نسبت به سایر شوینده‌ها داشت. ضرایب همبستگی بین لگاریتم غلظت شوینده‌ها و میزان مرگ و میر دافنی طبق جدول Probit analysis با احتمال ۹۵ درصد در جدول ۲ نشان داده شده است. این ضریب از ۷۹ تا ۹۹ درصد در نوسان بود.

جدول ۲: ضریب همبستگی بین لگاریتم غلظت شوینده و Probit values

شوینده	معادله خط رگرسیون (Y)	ضریب همبستگی (r)
مایع A	$Y = -0.232904 + 4.06802 X$	$r = 0.790899$
مایع B	$Y = -0.363838 + 6.11409 X$	$r = 0.878231$
پودر C	$Y = -3.29231 + 5.73317 X$	$r = 0.891259$
پودر D	$Y = -6.85031 + 6.9308 X$	$r = 0.988353$
پودر E	$Y = -3.79543 + 6.00287 X$	$r = 0.990811$
شامپو F	$Y = -1.90868 + 4.02474 X$	$r = 0.966236$

اشرف خراسانی (۱۳۷۲) بیان نمود که میزان LABS-Na در خروجی پیر بازار تالاب انزلی به حدود ۰/۸۹ میلی‌گرم در لیتر در فصل زمستان می‌رسد. این میزان بیش از حد مجازی است که برای دافنی ماگنا کسب گردیده است. از سال ۱۳۷۲ تاکنون تراکم جمعیت و میزان مصرف مواد



شوینده براساس ارتقاء سطح بهداشت افزوده شده بنابراین احتمالاً مقادیر LABS-Na در خروجی پیر بازار نیز بیشتر از سال مذکور است. سالانه میزان زیادی از LABS-Na توسط جویها و رودخانه‌هایی که از مناطق مسکونی و صنعتی گذر می‌کنند وارد این اکوسیستم آبی گشته و با زیاد شدن جمعیت شهرها و مصرف بی‌رویه این مواد آسیبه‌های زیادی در آینده به اکوسیستم تالاب وارد خواهد آمد. شایان ذکر است که میزان LABS-Na در تالاب انزلی در حال اندازه‌گیری بوده و در پایان این پروژه گزارش خواهد شد.

Falbe (1978) بیان داشت که میزان  $Lc_{50}$  برای اثر LAS بر روی *Daphnia* حدود ۸ تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. وی گونه دافنی مورد بررسی را اعلام ننموده است.

طبق بررسی‌هایی که (Chattopadhyay & Konar, 1985(b) بر روی شوینده Parnol J (حاوی ۲۰ درصد LAS) انجام دادند، بیان نمودند که غلظت ۰/۰۵ تا ۰/۵۷۴ میلی‌گرم در لیتر برای پلانکتون *Diaptomus forbesi* مرگ آفرین می‌باشد. مطالعات محققین مذکور نشان داده است که میزان ۰/۲۵ تا ۱/۱ میلی‌گرم در لیتر آلکیل سولفونات بنزن خطی میزان ارگانوسم‌های مختلف زئوپلانکتونی را بطور قابل توجهی کاهش می‌دهد، لاروهای شیرونومیده (Chironomidae) کاهش قابل توجهی یافته و در غلظت‌های زیاد شوینده فوق استراکودا (Ostracoda) نیز واکنش نشان داده و از این محیط دوری می‌کنند. این دو محقق در سال ۱۹۹۱ آزمایشی را با مایع پارانول جی (حاوی ۲۰ درصد LAS) بر روی *Diaptomus forbesi* انجام دادند. آنها منبعی با گنجایش ۶۰ لیتر را با آب فاقد کلر آبگیری کرده، آنرا در فضای باز قرار داده و با ۲/۸۷ppm از این شوینده جهت آزمایش آماده کردند، بعد از ۴ روز ۲۵۰ میلی‌لیتر از آن را در ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته و ۱۰ عدد از پلانکتون فوق را به آن اضافه نمودند پس از ۲۴ ساعت متوجه شدند که ۱۰۰ درصد این موجودات از بین رفته‌اند، آنها همچنین بعد از ۲۴ روز در همین منبع آب آزمایش فوق را بمدت ۲۴ ساعت تکرار نموده و دریافتند که میزان مرگ و میر به ۶ درصد و بعد از ۲۸ روز به صفر رسیده است. آنها این کاهش را ناشی از عمل میکروارگانوسم‌ها بر روی شوینده دانستند.

(Ghatak & Konar , 1991) دریافتند که شوینده‌ها هنگامی که با ماده شیمیائی دیگر مخلوط شوند درصد مرگ و میر افزایش می‌یابد. آنها هنگامی که از غلظت‌های مجاز و غیر کشنده پارتول جی و n-heptan مخلوطی تهیه نموده و بر گونه *Diaptomus forbesi* اثر دادند، میزان مرگ و میر از ۱۰ درصد به ۵۰ درصد افزایش یافت.

بنابراین روشن است که گاهاً یک شوینده ممکن است در یک اکوسیستم آبی بحد مجاز وجود داشته باشد اما مخلوط آن با یک ماده شیمیائی دیگر ممکن است میزان مرگ و میر را بطور قابل توجهی زیاد نماید.

با توجه به اینکه شوینده‌های مصرف شده در مناطق مسکونی و صنعتی از طریق رودخانه‌ها وارد تالاب شده و باری بر بارهای آلودگی تالاب می‌افزایند و فرآیند اثر آنها بر ارگانیسم‌های آبی مشخص نیست، بنابراین پیشنهاد می‌گردد در آینده سعی شود اثر هر یک از شوینده‌ها بر پلانکتونها، سایر آبزیان و حتی ماهیان مورد مطالعه و بررسی قرار گیرد.

مطالعه منابع مختلف نشان می‌دهد که گاهاً شوینده‌ها با دُز کمتر خود بطور مستقیم در مرگ و میر ارگانیسم نقشی ایفا نمی‌کنند ولی مخلوط آنها با یک ماده شیمیائی دیگر مرگ و میر را بسیار افزایش می‌دهند، از اینرو بررسی اثر مخلوط آنها بر ارگانیسم‌ها نیز باید در آینده مورد مطالعه قرار گیرد. همچنین با توجه به اینکه مایع‌های ظرفشویی تاثیر بیشتری را در مرگ و میر دافنی ماگنا نشان دادند بایستی سعی شود که از مایع‌هایی که اثر کمتری بر اکوسیستم‌های آبی و ارگانیسم‌های موجود در آن دارند استفاده گردد. همچنین برقراری سیستم‌های تصفیه پس‌آبهای شهری می‌تواند مخاطرات کمتری را برای اکوسیستم آبی ایجاد نماید.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله سپاس خود را از برادران دکتر شعبانعلی نظامی رئیس و مهندس صفائی معاونت تحقیقاتی مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان که رهنمودهای لازم را در اجرای پروژه داشته‌اند اعلام کرده و از برادران مهندس خداپرست و مهندس صابری و دکتر مهدی‌نژاد و صلواتیان و خانم





مهندس محمدجانی که همکاریهای لازم را در اجرای پروژه انجام داده‌اند صمیمانه تشکر می‌نمایم. همچنین از برادران مهندس کریمپور، مهندس حسین پور که مقاله فوق را ویرایش نموده‌اند کمال تشکر و سپاس را دارم.

## منابع

- اشرف خراسانی، م. ۱۳۷۲. تعیین میزان سورفکتانتها در تالاب انزلی. مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان. بند انزلی
- مؤسسه استاندارد بی تا. ۹. بروشور شوینده‌ها. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. تهران
- مهندسین مشاور یکم. ۱۳۶۷. مطالعات گام اول طرح جامع تالاب انزلی. جلد هفتم. لیمنولوژی. وزارت جهاد سازندگی کمیته امور آب. تهران
- Able, P.D., 1974.** Toxicity of synthetic detergents to fish and aquatic invertebrates. *J. Fish. biol.* 6:279-298
- Chattopadhyay, D.N. & Konar, S.K. 1985(a).** Acute and chronic of alkyl benzene sulfonate on fish, plankton and worm. *Environ - Ecol.* 1985. Vol. 3, No.2. pp:258-262
- Chattopadhyay, D.N. & Konar, S.K. 1985(b).** Chronic effects of linear alkyl benzene sulfonate on aquatic ecosystem. *Environ - Ecol.* Vol. 3, No.3. pp:428 - 433
- Chattopadhyay, D.N. & Konar, S.K. 1991.** Removal of Toxicity of linear alkyl benzene sulfonate through alge culture. *Environ - Ecol.* (2) pp:342 - 344
- Dakay, M.F. & Kikodemusz, I. 1981.** Effect of synthetic detergents on the formazan of various environmental bacteria. *Zentralbl. Mikrobiol.* 174 : 121 - 124
- Falbe, J. 1978.** Surfactants in consumer products. *Theory. Technology and*



Application Springer - Verlag Heidelberg

**Finney, D. 1971.** probite analysis cambridge, Cambridge Univ. Press, pp:1-333

**Ghatak, D.B. & konar, s.K. 1991.** Acute toxicity of a mixture of Anionic Detergent parnol J and petro-chemical n-heptane to plankton, worm and fish

**Konar, S.K. & Mullick, S. 1993.** Pollutional Hazards of coastal waters by petroleum products, Detergents and heavy metals

**TRC. 1984.** OECD guideline for testing of chemicals. Section2, Effects on biotic systems. p. 1-39