

آزمون سمیت فاضلاب حاوی آفت کش تصفیه شده به روش سیستم تلفیقی راکتور رشد ترکیبی چسبیده و معلق-فتوراکتور زیستی جلبکی توسط دافنیا مگنا

زهرا درخشان^۱، فاطمه کازرونی^۲، نیما هوشمند کوچک^{۲*}

^۱ مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

^۲ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

چکیده: حذف آفت کش های مقاومی مانند آترازین از آب، یکی از چالش های اساسی در مهندسی بهداشت محیط است. تصفیه های نوین تلفیقی مانند HIFAS (راکتور زیستی تلفیقی با بستر ثابت یکپارچه) همراه با فتوراکتورهای زیستی جلبکی، راهکارهای امیدوارکننده ای برای رفع این مشکل ارائه می کنند. هدف این مطالعه، ارزیابی کارایی تصفیه HIFAS-فتوراکتور زیستی جلبکی در حذف آترازین و سمیت زدایی واقعی پساب خروجی با استفاده از زیست سنجی دافنیا مگنا بود. فاضلاب مصنوعی حاوی آترازین در غلظت های ۱ و ۱۰ میلی گرم بر لیتر در یک آزمایش تلفیقی تصفیه شد. آزمون سمیت حاد با نوزادان دافنیا مگنا (سن > ۲۴ ساعت) طبق دستورالعمل OECD در بازه های زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انجام گرفت. شاخص LC₅₀ با تحلیل پروبیت و سپس واحد سمیت حاد (TUa) و بازده کاهش سمیت (R) محاسبه شد. نتایج نشان دادند آترازین به تنهایی سمیت قابل توجهی ایجاد می کند؛ مقادیر LC₅₀ در غلظت های ۱ و ۱۰ میلی گرم بر لیتر پس از ۴۸ ساعت به ترتیب ۱۱/۱۳ و ۱۱۱/۳۱ mg/L بودند. سامانه تلفیقی در مواجهه های کوتاه مدت (۲۴ و ۴۸ ساعت) عملکرد بسیار مطلوبی در کاهش سمیت داشت و بازدهی ۹۹/۹۹ درصدی (TUa < 0.0001) ایجاد کرد. اما در مواجهه های طولانی تر (۷۲ و ۹۶ ساعت)، سمیت باقیمانده مشاهده و بازده کاهش سمیت به حدود ۳۲ تا ۳۸ درصد افت کرد. در نتیجه، سیستم HIFAS-فتوراکتور زیستی جلبکی در حذف سمیت حاد ناشی از آترازین مؤثر است، اما تشکیل ترکیبات جانبی پایدار طی تصفیه می تواند به بروز سمیت مزمن منجر شود. بنابراین، استفاده از آزمون های زیستی مزمن برای ارزیابی جامع تر ایمنی پساب های تصفیه شده ضروری است.

واژگان کلیدی: دافنیا مگنا، آترازین، HIFAS، فتوراکتور زیستی جلبکی، سمیت حاد.

hnima123a@gmail.com

عوامل محیطی به تنهایی یا توأم با یکدیگر را مورد بررسی قرار می دهد. با استفاده از در معرض قرار دادن جانداران در مقادیر مختلف آلوده کننده، زیست آزمونی برای ارزیابی اثرات سمیت آنها انجام می گیرد که به وسیله پایش خصوصیات و رفتارهای زیستی

۱- مقدمه

زیست آزمونی^۱ روشی است که عکس العمل های موجودات آبی برای آشکارسازی، اندازه گیری یا تأثیر یک یا چند ماده سمی یا

^۱Bioassay

شاخص طلایی شناخته می‌شود [۴] و توانایی ارزیابی اثرات حاد (۴۸ ساعته)، مزمن و حتی اثرات بین‌نسلی را دارد [۱۴-۱۷].

سیستم‌های نوین تصفیه زیستی مانند جلبک-باکتری، از جمله سیستم HIFAS^۴ فتوراکتور زیستی جلبکی مورد استفاده در این پژوهش، پتانسیل بالایی در حذف هم‌زمان مواد مغذی و میکروآلاینده‌ها نشان داده‌اند [۱۸]. با این حال، کارایی این سیستم‌ها در دستیابی به سمیت‌زدایی واقعی در حضور آلاینده‌های پیچیده‌ای مانند آترازین، هنوز به طور کامل شناخته نشده است.

این پژوهش با هدف پر کردن این شکاف علمی، کارایی یک سیستم تلفیقی نوین تصفیه مبتنی بر جلبک و فرآیند HIFAS را در حذف سمیت فاضلاب حاوی آترازین، با استفاده از زیست‌آزمونی دافنیا مگنا در دوره زمانی تا ۹۶ ساعت مورد ارزیابی قرار می‌دهد. با وجود پیشرفت‌ها در زمینه تصفیه، اکثر مطالعات بر کارایی حذف آترازین (از نظر غلظتی) در کوتاه‌مدت (۴۸ ساعت) متمرکز هستند و سمیت‌زدایی نهایی پساب خروجی، به‌ویژه در معرض قرارگیری طولانی‌مدت، اغلب نادیده گرفته می‌شود. آترازین در طول فرآیندهای زیستی می‌تواند به محصولات جانبی تبدیل شود که گاهی اوقات از خود آترازین نیز سمی‌تر هستند. ارزیابی صحیح ایمنی زیست‌محیطی نیازمند آزمون‌های طولانی‌مدت است. نوآوری اصلی این پژوهش در این است که اول، ارزیابی سمیت‌زدایی واقعی پساب حاوی آترازین در بازه زمانی گسترده (۲۴ تا ۹۶ ساعت) و مقایسه آن با نتایج آزمون استاندارد ۴۸ ساعته انجام می‌شود و دوم، بررسی عملکرد یک سامانه تلفیقی مبتنی بر HIFAS همراه با فتوراکتور زیستی جلبکی در حذف سمیت و مقایسه اثرات کوتاه‌مدت و طولانی‌مدت آن انجام می‌شود. مورد سوم اینکه، تلفیق نتایج زیست‌آزمونی دافنیا مگنا با تحلیل پیامدهای احتمالی تشکیل محصولات جانبی به منظور ارائه چشم‌اندازی کاربردی برای بازنگری در روش‌های پایش زیست‌محیطی انجام می‌شود. بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد که ارزیابی طولانی‌مدت سمیت و توجه به محصولات تبدیل برای درک کامل خطر بوم‌شناسی ضروری است [۱۹].

این جانداران و مقایسه آن‌ها با جاندارانی که هیچ‌گونه مواجهه‌ای با مواد آلوده‌کننده نداشته‌اند امکان‌پذیر می‌باشد [۱، ۲]. در زیست‌آزمونی از موجودات زبیدی نظیر انواع ماهی، جلبک، باکتری و انواع موجودات آب‌های شیرین و دریا مانند دافنیا استفاده می‌شود. دو گونه اصلی دافنیا، مگنا و پولکس هستند. امروزه استفاده از دافنیا مگنا به دلیل حساسیت بالا و سهولت استفاده از آن برای پایش پساب خروجی و تعیین راندمان تصفیه‌خانه برای کاهش سمیت در کشورهای مختلف پذیرفته شده است. در تحقیقی که از دافنیا مگنا، و بیوریفیشری و ریزجلبک‌ها استفاده شده است، نتایج آزمایش‌ها نشان داد از بین این موجودات، دافنیا مگنا حساسیت بیشتری به آلاینده‌های محیط دارد [۳]. دافنیا مگنا بزرگ‌ترین نوع دافنیا است که اندازه بالغ آن به ۵-۲ میلی‌متر می‌رسد. دافنیا مگنا به علت زمان تولید مثل کوتاه، حساسیت بالا، ساده بودن آزمایش و پایین بودن هزینه‌های آزمایشگاهی و از همه مهم‌تر به دلیل بکرزا بودن (هماندی ژنتیکی که از مهم‌ترین عوامل در اعتبار نتایج به دست آمده از آزمایش‌های زیست‌آزمونی است؛ در نوزادانی که از یک جنس ماده متولد می‌شوند، وجود دارد) در اقدامات کنترل آلودگی آب جایگاه ویژه‌ای دارد [۴، ۵].

با وجود این مزایا، چالش اصلی در مدیریت فاضلاب‌های آلوده به ترکیبات نوظهور از جمله آفت‌کش آترازین، فراتر از حذف ترکیب شیمیایی اولیه است [۴، ۶]. در حوزه مهندسی بهداشت محیط، یک تغییر رویکرد اساسی در حال شکل‌گیری است؛ به این معنی که تمرکز از حذف آلاینده به سمت کاهش سمیت تغییر می‌کند [۷، ۸]. مطالعات نشان داده‌اند که فرآیندهای تصفیه زیستی، اگرچه در حذف ترکیب اولیه کارآمد هستند، اما اغلب منجر به تبدیل شیمیایی آن به جای تجزیه کامل می‌شوند [۸، ۹]. این فرآیندها می‌توانند محصولات جانبی حد واسط (TPS)^۵ ایجاد کنند که در بسیاری موارد از نظر پایداری، تجمع زیستی و سمیت، متفاوت و حتی خطرناک‌تر از ترکیب اولیه هستند [۱۰-۱۳]. در نتیجه، ممکن است پسابی که از نظر شیمیایی پاک به نظر می‌رسد، همچنان برای زیست‌بوم‌های آبی خطرناک باشد [۵، ۷]. در چنین شرایطی، اهمیت روش‌های «ارزیابی مبتنی بر اثر» و آزمون‌های بوم‌شناسی^۳ برجسته می‌شود [۷، ۲۲]. در این میان، دافنیا مگنا به عنوان یک گونه

^۴Ecotoxicology

^۵Hybrid-Integrated Fixed Film Activated Sludge

^۳Daphnia magna

^۴Transformation Products

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- کشت و نگهداری دافنیامگنا

دافنیای مورد نیاز از مرکز تکثیر و پرورش ماهی اصفهان تهیه گردید. به منظور تهیه دافنیاهایی با همانندی ژنتیکی یکسان در مرحله اول یکی از دافنیاهای به تنهایی در محیط کشت تهیه شده کشت داده شد. سپس نوزادهای به دنیا آمده نگهداری و تغذیه شدند تا به مرحله بلوغ رسیده و جهت تولید انبوه مورد استفاده قرار گرفتند. محیط کشت مورد نیاز بر اساس روش‌های ذکر شده در کتاب روش‌های استاندارد آزمایش‌های آب و فاضلاب، استاندارد شماره ۸۷۱۱ و همچنین نشریه شماره EPA-821-R-02-012 آماده گردید. برای آماده‌سازی محیط کشت استاندارد، مواد و عناصر غذایی لازم به آب مقطر افزوده شد. به منظور تهیه محیط کشت طبیعی، ۵ گرم کود گوسفندی خشک، ۲۵ گرم خاک باغچه و یک لیتر آب مقطر مخلوط گردید. محلول حاصل پس از دو روز نگهداری در دمای آزمایشگاه، توسط کاغذ صافی با منافذ ۰/۱۵ میلی‌متر صاف شد و به عنوان محیط پرورش دافنی مورد استفاده قرار گرفت. برای تکثیر دافنی از ظرف شیشه‌ای دهان گشاد به حجم ۵ لیتر که حاوی ۳ لیتر محیط کشت بود، استفاده شد. محیط کشت دافنی به صورت هفتگی عوض شد و دافنیاهای مرده از آن خارج گردید و با پمپ هوای آکواریومی و به صورت ملایم هوادهی شد. برای آزمایش از دافنیاهای چند روزه (سه تا چهار روزه) با اندازه یکسان استفاده شد. برای تغذیه دافنی یک روز بعد از کشت اولیه یک میلی‌گرم مخمر خشک به آب ظرف به طور یک روز در میان اضافه شد. همچنین کنترل دما به طور دائمی با یک دماسنج در داخل محیط کشت انجام می‌گرفت (مناسب‌ترین درجه حرارت برای دافنی مگنا ۲۵ درجه سلسیوس می‌باشد) [۲۰]. مهم‌ترین مرحله برای زیست‌آزمونی با دافنی مگنا مرحله نوزادی است که اندازه نوزادان آن‌ها به ۰/۸-۱ میلی‌متر می‌رسد که با چشم غیرمسلح دیده می‌شوند و در این دوره زندگی اهمیت زیادی در آزمایش‌های زیست‌آزمونی دارد. علت استفاده از نوزاد دافنی به جای دافنیای بالغ این است که در صورت استفاده از دافنیای بالغ امکان تولید مثل و

افزایش تعداد دافنی در نمونه‌های مورد بررسی وجود داشت، که این امر سبب تداخل در نتایج آزمایش‌ها و عدم قطعیت آن‌ها می‌شد.

۲-۲- آماده‌سازی نمونه‌ها و آزمایش سمیت

برای تعیین سمیت آترازین در فاضلاب خام ورودی، ابتدا محلول مادر با غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شد. سپس ۹ نمونه با درصدهای حجمی متفاوت شامل ۰ (شاهد)، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد از محلول مادر آماده شد. برای تعیین سمیت پساب خروجی، نمونه‌ها از خروجی سیستم تلفیقی HIFAS-فتوراکتور زیستی جلبکی برداشت شدند که غلظت اولیه آترازین در جریان ورودی آن مقادیر ۱ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. با توجه به نامشخص بودن غلظت محصولات احتمالی و ترکیبات حدواسط موجود در پساب، نمونه‌های لازم برای آزمون زیستی بر اساس درصد حجمی در ۹ سطح مشابه نمونه‌های ورودی (۰ تا ۱۰۰ درصد حجمی) تهیه شدند. تمامی آزمون‌ها در شرایط pH خنثی انجام گرفتند.

۲-۳- شیوه نامه زیست‌آزمونی و آنالیز آماری

با توجه به حساسیت دافنی و گزارش‌ها موجود در مورد اینکه دافنی مگنا حساس‌ترین بی‌مهره آبی به ترکیبات آلی مختلف است در این پژوهش LC₅₀ (غلظت کشنده ۵۰٪) و واحد سمیت حاد^۲ (TUa) تعیین شد. میزان TUa از طریق رابطه ۱ محاسبه گردید:

$$TUa = 100 / LC_{50} (v/v) \quad (1)$$

LC₅₀ و حدود بالا و پایین آن با توجه به آنالیز آماری پروبیت^۳ مشخص شدند. برای تعیین میزان سمیت آترازین از نرم‌افزار پروبیت نسخه ۲ استفاده گردید.

در این بررسی پس از تهیه محلول‌های آزمایش، نوزادانی که طی ۲۴ ساعت گذشته و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس از کیسه مادری آزاد شدند، در هر ظرف به یک تعداد (حداقل ۱۰ عدد نوزاد دافنی که در آب رقیق‌سازی شستشو شده‌اند) تلقیح شدند و مشاهدات بطور منظم انجام می‌گرفت. از یک پیپت شیشه‌ای ۱۰ میلی‌متری جهت جمع‌آوری و انتقال دافنی‌ها استفاده شد.

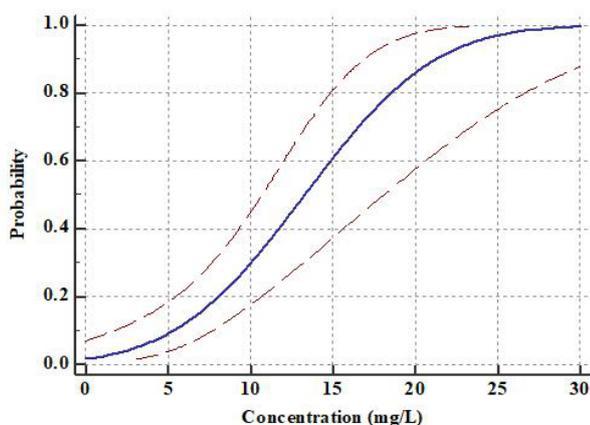
^۳Probit Analysis

Lethal Concentration 50%

^۲Toxicity Unit acute

توانسته است آترازین و محصولات جانبی احتمالی را تا حد زیادی بی‌اثر کند.

نتایج حاصل از محاسبه LC_{50} و TUa برای فاضلاب خام و پساب در جدول ۳ آورده شده است. در هر دو سطح ورودی آترازین (۱ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر)، مقدار LC_{50} پساب به طور معنی‌داری افزایش یافته است که نشان‌دهنده کاهش سمیت پس از عبور از سیستم تصفیه است. مقادیر TUa برای فاضلاب خام نسبت به پساب به شکل چشمگیری بالاتر بود و این اختلاف در زمان‌های تماس



شکل ۱. احتمال مرگ در دافنیای تماس یافته با آترازین.

جدول ۱. اطلاعات آزمون سمیت پساب تصفیه شده برای فاضلاب دارای غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر.

درصد حجمی	تعداد دافنیای زنده در هر رقت	غلظت	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
۰ (شاهد)	۱۰	۰	۰	۰	۰	۰
۵	۱۰	۰/۵	۰	۰	۰	۰
۱۰	۱۰	۱	۰	۰	۰	۱
۲۰	۱۰	۲	۰	۰	۱	۲
۳۰	۱۰	۳	۰	۰	۱	۲
۴۰	۱۰	۴	۰	۰	۲	۳
۵۰	۱۰	۵	۰	۰	۲	۳
۷۵	۱۰	۷/۵	۱	۱	۲	۲
۱۰۰	۱۰	۱۰	۱	۲	۳	۳

جهت تعیین سمیت حاد با استفاده از دافنیا مواجهه ۴۸ ساعته یک مدت زمان قابل قبول است، اما در این مطالعه جهت بررسی اثر زمان، مواجهه ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعته مورد ارزیابی قرار گرفت. بعد از تماس دافنیای با غلظت‌های مورد نظر، دافنیای غیر متحرک به عنوان دافنیای مرده شمارش شدند. گفتنی است موجوداتی بدون حرکت در نظر گرفته می‌شدند که حتی پس از تحریک به وسیله پیپت نیز هیچ تحرکی نداشتند.

۲-۴- محاسبه بازده کاهش سمیت

در پایان آزمایش‌ها، واحد سمیت حاد و بازده حذف سمیت (R) برای شرایط مختلف عملکرد سیستم تعیین شد. بازده کاهش سمیت از رابطه ۲ محاسبه گردید:

$$R = \left[\frac{(TUa_i - TUa_e)}{TUa_i} \right] \times 100 \quad (2)$$

که در آن R بازده کاهش سمیت بر حسب درصد، TUa_i واحد سمیت حاد در فاضلاب خام (ورودی) و TUa_e واحد سمیت حاد در پساب خروجی است.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- یافته‌ها

نتایج بدست آمده از آزمون سمیت نمونه‌های فاضلاب مصنوعی خام و تصفیه شده دارای غلظت‌های مختلف آترازین بر روی دافنیا مگنا در شکل ۱ آورده شده است و اطلاعات آزمون سمیت پساب تصفیه شده برای فاضلاب در دو غلظت ۱ و ۱۰ در جداول ۱ و ۲ آورده شده است و جدول ۳ نیز بازده حذف سمیت برای شرایط مختلف نشان داده شده است. برای ورودی ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، تنها در رقت‌های بالا (۷۵ و ۱۰۰ درصد) و پس از گذشت بیش از ۴۸ ساعت تماس، مرگ دافنیا مشاهده گردید. این موضوع نشان می‌دهد که بخش عمده ترکیبات سمی اولیه در پساب خروجی حذف یا غیرفعال شده‌اند.

در نمونه‌هایی با غلظت ورودی ۱ میلی‌گرم بر لیتر نیز الگوی مشابهی مشاهده شد و مرگ‌ومیر تنها در رقت‌های بالا و در زمان‌های طولانی‌تر بروز یافت. عدم مشاهده مرگ در غلظت‌های پایین‌تر و زمان‌های کوتاه‌تر حاکی از این است که سیستم تلفیقی

جدول ۲. اطلاعات آزمون سمیت پساب تصفیه شده برای فاضلاب دارای غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر.

درصد حجمی	تعداد دافنیای زنده در هر رقت	غلظت	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
۰ (شاهد)	۱۰	۰	۰	۰	۰	۰
۵	۱۰	۰/۵	۰	۰	۰	۰
۱۰	۱۰	۰/۱	۰	۰	۰	۰
۲۰	۱۰	۰/۲	۰	۰	۰	۰
۳۰	۱۰	۰/۳	۰	۰	۰	۰
۴۰	۱۰	۰/۴	۰	۰	۰	۰
۵۰	۱۰	۰/۵	۰	۰	۰	۱
۷۵	۱۰	۰/۷۵	۰	۰	۱	۱
۱۰۰	۱۰	۱	۰	۰	۱	۱

کوتاه مدت (۲۴ و ۴۸ ساعت) برجسته تر است. این مشاهده نشان می دهد که سمیت حاد در ساعات اولیه پس از تصفیه تقریباً به طور کامل حذف شده است.

بازده کاهش سمیت محاسبه شده برای هر دو غلظت ورودی آتزازین در جدول ۳ نشان داده شده است. این نتایج نشان می دهند که سیستم تلفیقی HIFAS-فتوراکتور زیستی جلبکی قادر بوده است بیش از ۹۹ درصد سمیت حاد را در زمان های ۲۴ و ۴۸ ساعت حذف کند. با افزایش زمان مواجهه (۷۲ و ۹۶ ساعت)، بازده حذف سمیت کاهش نسبی یافت و در محدوده ۳۲ تا ۳۸ درصد قرار گرفت. این الگو نشان دهنده احتمال حضور مقادیر کمی از محصولات حدواسط با تاثیرات مزمن تر است که با تماس طولانی فعال می شوند.

به طور کلی، عملکرد سیستم نشان دهنده دستیابی به سمیت زدایی واقعی و نه صرفاً حذف فیزیکی یا شیمیایی ماده آلاینده است، که اهمیت استفاده از زیست آزمونی در کنار تحلیل های شیمیایی را برجسته می کند.

۲-۳- بحث

نتایج به دست آمده در این پژوهش، چشم اندازی روشن از عملکرد

جدول ۳. بازده حذف سمیت برای فاضلاب تصفیه شده دارای غلظت های مختلف آتزازین ورودی.

غلظت آتزازین ورودی	بازده کاهش سمیت	TUa خروجی	TUa ورودی	LC50 پساب	LC50 فاضلاب	زمان
۱ میلی گرم بر لیتر	۹۹/۹۹۹	< ۰/۰۰۰۱	۸/۷۵	> ۱۰۰۰۰۰۰	۱۱/۴۲	۲۴
	۹۹/۹۹۹	< ۰/۰۰۰۱	۸/۹۷	> ۱۰۰۰۰۰۰	۱۱/۱۳	۴۸
	۳۸/۰۷	۶/۲۸	۱۰/۱۴	۱۵/۹۱	۹/۸۶	۷۲
	۳۲/۲۰	۶/۹۹	۱۰/۳۱	۱۴/۲۹	۹/۶۹	۹۶
۱۰ میلی گرم بر لیتر	۹۹/۹۹۹	< ۰/۰۰۰۱	۰/۸۷	> ۱۰۰۰۰۰۰	۱۱۴/۲۱	۲۴
	۹۹/۹۹۹	< ۰/۰۰۰۱	۰/۸۹	> ۱۰۰۰۰۰۰	۱۱۱/۳۱	۴۸
	۳۸/۱۷	۰/۶۲	۱/۰۱	۱۵۹/۱۲	۹۸/۳۷	۷۲
	۳۲/۲۰	۰/۶۹	۱/۰۳	۱۴۲/۹۳	۹۶/۹۰	۹۶

سیستم‌های تصفیه زیستی پیشرفته در حذف سمیت پساب‌های آلوده به آترازین ارائه می‌دهد و به طور مستقیم به خلأهای مطرح‌شده در مطالعات اخیر در زمینه پایداری سمیت و نقش محصولات جانبی حد واسط اشاره می‌کند [۷, ۹, ۱۶]. تحلیل حاضر بر سه محور اصلی، کارایی جمعی و قابل توجه سیستم تلفیقی - HIFAS فتوراکتور زیستی جلبکی در حذف سمیت حاد، تاثیر زمان بر میزان سمیت در مواجهه‌های طولانی مدت و پیامدهای اساسی این نتایج در بازنگری ارزیابی ریسک و تدوین رویکردهای دقیق‌تر پایش زیست‌محیطی، متمرکز است.

۲-۳-۱- کارایی سیستم تلفیقی HIFAS-فتوراکتور زیستی جلبکی

نتایج جدول ۳ به وضوح نشان می‌دهد که سیستم تلفیقی HIFAS-فتوراکتور زیستی جلبکی در حذف سمیت حاد (۲۴ و ۴۸ ساعته) آترازین، کارایی فوق‌العاده‌ای (۹۹/۹٪) دارد. این یافته با توجه به مطالعات قبلی که اثربخشی سیستم‌های زیستی نوین را تأیید می‌کنند، همسو است. سیستم‌های هیبریدی مانند HIFAS (بستر ثابت) و سیستم‌های همزیست جلبک-باکتری، با ایجاد زیست‌توده متراکم و متنوع و بهره‌گیری از مسیرهای متابولیکی ترکیبی (جذب، تخریب زیستی و فتوتخریب)، قادر به شکستن ساختار آلاینده‌های مقاوم مانند آترازین هستند [۱۸, ۲۱, ۲۲]. کاهش TUa به مقادیر ناچیز (کمتر از ۱) در ۴۸ ساعت نشان می‌دهد که ترکیب مادر (آترازین) و محصولات جانبی اولیه آن که مسئول سمیت حاد هستند، به طور مؤثری از پساب حذف شده‌اند.

داده‌های ارائه‌شده در جداول ۲ و ۳ الگوی زمانی مهمی را در رفتار سمیت پساب تصفیه‌شده آشکار می‌کنند. در مواجهه‌های کوتاه‌مدت ۲۴ و ۴۸ ساعته، افزایش قابل توجه LC₅₀ و کاهش چشمگیر واحدهای سمیت حاد (TUa) نشان می‌دهد که سیستم تلفیقی HIFAS همراه با فتوراکتور زیستی جلبکی توانسته است بخش عمده ترکیبات سمی اولیه را حذف یا غیرفعال کند. این کاهش سریع سمیت در ساعات ابتدایی پس از تماس دافنیا با پساب، بازتاب‌دهنده تجزیه مؤثر آترازین و حذف محصولات حدواسط بسیار واکنش‌پذیر است. با این حال، روند مشاهده‌شده در مواجهه‌های ۷۲ و ۹۶ ساعته، تصویری متفاوت و پیچیده‌تر ارائه می‌دهد. کاهش LC₅₀ نسبت به ۴۸ ساعت، همراه با افزایش نسبی

TUa، بیانگر این است که با گذشت زمان، برخی ترکیبات پایدارتر یا محصولات تبدیل آترازین که در مراحل اولیه تأثیر حاد ندارند، می‌توانند در تماس طولانی‌مدت اثرات زیان‌آور ایجاد کنند. این پدیده در مطالعات جدید نیز گزارش شده است که نشان می‌دهد برخی محصولات تبدیل آترازین از جمله مشتقات کلردار، دهیدروکلراترازین و برخی متابولیت‌های فتوترانسفورمد علی‌رغم کاهش سمیت حاد اولیه، قادرند سمیت مزمن یا تأخیری ایجاد کنند [۲۳].

همچنین، مشاهده افزایش مرگ‌ومیر دافنیا در رقت‌های بالاتر در زمان‌های ۷۲ و ۹۶ ساعت نشان می‌دهد که اثرات دیررس این محصولات حدواسط ممکن است تجمعی یا وابسته به زمان باشد. مطالعات اخیر بر روی راکتورهای جلبکی-باکتری نیز تأیید کرده‌اند که تجزیه ترکیبات مقاوم در سیستم‌های زیستی می‌تواند به تشکیل ترکیبات ثانویه‌ای منجر شود که رفتار بوم‌شناسی متفاوتی نسبت به ترکیب مادر دارند و اثر واقعی آن‌ها تنها در آزمون‌های طولانی‌مدت آشکار می‌شود [۱۹, ۲۴].

به‌طور کلی، تحلیل جداول ۲ و ۳ نشان می‌دهد که اگرچه سیستم تلفیقی مورد مطالعه در کاهش سمیت حاد آترازین بسیار موفق عمل می‌کند، ارزیابی کیفیت پساب بر اساس آزمون‌های کوتاه‌مدت می‌تواند گمراه‌کننده باشد. زیرا محصولات تبدیل پایدارتر می‌توانند در بازه‌های زمانی طولانی‌تر موجب بروز اثرات زیست‌محیطی شوند. بنابراین، استفاده از آزمون‌های مزمن، چندنسلی و همچنین شناسایی دقیق ترکیبات تبدیل‌شده برای ارزیابی جامع‌تر ریسک بوم‌شناسی ضروری است.

۲-۳-۲- تاثیر زمان بر میزان سمیت در مواجهه‌های طولانی مدت

مهم‌ترین یافته این پژوهش، بازگشت قابل توجه سمیت در زمان‌های ۷۲ و ۹۶ ساعت است، پدیده‌ای که ماهیت برخی محصولات جانبی آترازین را آشکار می‌سازد. در حالی که استاندارد آزمون ۴۸ ساعته پساب را ایمن ارزیابی می‌کند، افزایش زمان مواجهه منجر به افت شدید بازده سمیت‌زدایی به محدوده ۳۲ تا ۳۸ درصد شد که نشان‌دهنده حضور محصولات پایدارتر و بالقوه سمی‌تر است. نتایج مشاهده شده بیانگر آن است که در ساعات

است. این موضوع احتمال تشکیل محصولات جانبی را مطرح می‌کند که می‌توانند در آزمون‌های کوتاه‌مدت قابل تشخیص نباشند، اما در دوره‌های زمانی بلندتر اثرات زیستی قابل توجهی ایجاد کنند. بنابراین، نتایج به‌روشنی بیانگر آن است که ارزیابی کارایی تصفیه تنها براساس شاخص‌های شیمیایی یا آزمون‌های کوتاه‌مدت نمی‌تواند تصویر کاملی از ایمنی خروجی سیستم ارائه دهد. بر این اساس، انجام آزمون‌های مزمن، شناسایی دقیق ترکیبات جانبی با استفاده از روش‌های تحلیلی پیشرفته و بررسی تغییرات زمانی سمیت برای تکمیل ارزیابی سیستم تصفیه ضروری است. این اقدامات می‌تواند به روشن شدن مسیرهای تبدیل آترازین و نقش احتمالی محصولات جانبی در پایداری سمیت کمک کند و در عین حال، زمینه را برای بهینه‌سازی مراحل تکمیلی تصفیه فراهم سازد.

در مجموع، اگرچه سیستم مورد مطالعه پتانسیل قابل توجهی در حذف سمیت حاد آترازین دارد، نتایج نشان می‌دهد که دستیابی به سمیت‌زدایی کامل نیازمند رویکردی چندمرحله‌ای و ارزیابی‌های زمان‌محور است. توجه به این ملاحظات می‌تواند ضمن پاسخ‌گویی به چالش‌های مطرح‌شده، مسیر توسعه و ارتقای سیستم‌های نوین تصفیه را برای کاربری‌های عملی و پایدار هموار سازد.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه با تایید کمیته اخلاق در پژوهش‌های پزشکی با کد اخلاق: IR.SSU.SPH.REC.1394.102.1 و با شماره گونت ۶۴۷۰ انجام گردید.

مراجع

1. A. Pacheco, A. Martins, L. Guilhermino, Sci. Total Environ. 628-629, 474(2018).
2. S. R. Qasim, G. Zhu, Wastewater Treatment and Reuse, Theory and Design Examples, Volume 1: Principles and Basic Treatment, CRC Press, Boca Raton, 2017.
3. M. D. Hernando. A. R. Fernández-Alba. R. Tauler, D. Barceló, Talanta 65, 358(2005).

اولیه، ساختار اصلی آترازین تجزیه شده و سمیت آن کاهش یافته است؛ اما در مراحل بعدی، محصولات جانبی که در زمان‌های ابتدایی اثر کشنده حاد نداشتند، با گذر زمان بر دافنیا اثر سو داشتند. افزایش مرگ‌ومیر در نمونه پساب خالص طی ۷۲ تا ۹۶ ساعت بیانگر تجمع یا فعال‌سازی تدریجی این مواد است.

این یافته با پژوهش‌هایی همسو است که گزارش می‌کنند محصولات جانبی برخی فرایندهای تصفیه می‌توانند نسبت به ترکیب اولیه سمی‌تر باشند [۱۰، ۱۱] یا اثرات مزمن مانند اختلال در رشد و تولیدمثل ایجاد کنند [۲۵]. بنابراین، نتایج حاضر نقش حیاتی زمان مواجهه در آشکارسازی سمیت واقعی را برجسته می‌کند.

۲-۳-۳- پیامدهای اساسی این نتایج در بازنگری ارزیابی ریسک و تدوین رویکردهای دقیق‌تر پایش زیست‌محیطی

این نتایج چالشی اساسی برای روش‌های متداول ارزیابی سمیت پساب به ویژه آزمون استاندارد ۴۸ ساعته LC₅₀ ایجاد می‌کند. اگر این پایش فقط بر اساس دستورالعمل استاندارد ۴۸ ساعته انجام می‌شد، این نتیجه بدست می‌آمد که سیستم با بازده ۹۹/۹٪ کار می‌کند و پساب آن برای رهاسازی در محیط زیست کاملاً ایمن است. اما نتایج ۹۶ ساعته نشان می‌دهد که این پساب در واقعیت سمی است و پتانسیل ایجاد اثرات مزمن در اکوسیستم پذیرنده را دارد. این دقیقاً همان شکافی است که مطالعات اخیر بر آن تأکید دارند که تست‌های حاد، اثرات تجمعی و تأخیری را که در تست‌های مزمن و چندنسلی آشکار می‌شوند، نادیده می‌گیرند [۱۴-۱۷]. مطالعه حاضر به صورت تجربی ثابت می‌کند که برای سیستم‌های تصفیه پیشرفته که محصولات جانبی تولید می‌کنند، ارزیابی سمیت حاد ۴۸ ساعته نه تنها کافی نیست، بلکه می‌تواند خطرناک باشد.

۴- نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که سیستم تصفیه تلفیقی HIFAS – فتوراکتور زیستی جلبکی قادر است در مراحل اولیه تصفیه، سمیت حاد آترازین را به‌طور قابل توجهی کاهش دهد و در دوره‌های ۲۴ تا ۴۸ ساعته عملکرد مطلوبی ارائه کند. با این حال، بررسی مواجهه‌های طولانی‌تر نشان داد که با وجود کاهش اولیه سمیت، روند کلی فرآیند همواره با پایداری یا بازگشت نسبی سمیت همراه

17. F. Alonzo, M. Trijau, D. Plaire, E. Billoir, *Sci. Total Environ.*, 914 (2024).
18. S. Saravanabhupathy, S. Santra, M. Das, S. Dey, S. Banerjee, R. Mahle, R. Banerjee, *Industrial Wastewater Reuse: Applications, Prospects and Challenges*, Springer Nature 2023.
19. N. R. Akmukhanova, S. N. Seiilbek, B. K. Zayadan, K. Bolatkhan, R. A. Bakytzhan, G. S. Domash, B. D. Bruce, *Microorganisms* 13, 2404(2025).
20. M. Asadi, A. Mahvi, *Tolooebehdasht* 12, 40(2014).
21. R. Tormo-Budowski, J. C. Cambroner-Heinrichs, J. E. Durán, M. Masís-Mora, D. Ramírez-Morales, J. P. Quirós-Fournier, C. E. Rodríguez-Rodríguez, *Chem. Eng. J.* 410 (2021).
22. M. Chen, N. Yu, Y. Chen, Q. Tong, Y. Guo, *Biodegradation* 32, 377(2021).
23. J. Hong, M. Revel, N. Boussetta, G. Enderlin, F. Nadaud, C. Roig, L. Nguimapi Tsague, S. Firmin, N. Grimi, F. Merlier, *Ecotoxicol Environ Saf* 302, 118706(2025).
24. A. Moreira, G. Marques, K. Araújo, A. Moraes, L. Mascaro, E. Pereira, *Catalysts* 15, 643(2025).
25. L. D. Brunelle, B. Szczygiel, L. S. Running, L. Su, K. M. Naas, N. Dai, A. Pérez-Fuentetaja, D. S. Aga, *ACS. EST.* 3, 438(2023).
4. A. I. Kakka, M. D. Herlekar, S. Awale, *Nat. Environ. Pollut. Technol.* 20, 695(2021).
5. H. J. Kim, D. Lee, C. H. Won, H. W. Kim, *Environ. Geochem. Health* 42, 1671(2020).
6. J. J. Rueda-Márquez, I. Levchuk, M. Manzano, M. Sillanpää, *Catalysts* 10 (2020).
7. E. R. B. Dantas, E. J. Silva, W. S. Lopes, M. R. do Nascimento, V. D. Leite, J. T. de Sousa, *Environ. Technol.* 41, 2637(2020).
8. A. Kravos, A.Z. Gotvajn, U.L. Stangar, B. N. Malinovic, H. Prosen, *Molecules*, 20(2022)
9. T. Fotiou, T. M. Triantis, A. E. Hiskia, D. Dziga, S. Merel, C. Edwards, M. G. Antoniou, *Water Treatment for Purification from Cyanobacteria and Cyanotoxins*, wiley 2020.
10. F. Di, D. Han, J. Wan, G. Wang, Y. Wang, *J. Water Process Eng.* 70 (2025).
11. F. Di, D. Han, J. Wan, G. Wang, Y. Wang, *J. Environ. Chem. Eng.* 12 (2024).
12. A. J. Moreira, G. N. Marques, K. C. D. Araújo, A. S. D. Moraes, L. H. Mascaro, E. C. Pereira, *Catalysts* 15 (2025).
13. M. V. D. C. Albuquerque, R. D. O. Ramos, V. D. Leite, J. T. de Sousa, M. C. U. de Araújo, B. S. O. de Ceballos, W. S. Lopes, *Aquat. Toxicol.*, 245 (2022).
14. A. Olkova, *Environ. Res. Eng. Manage.* 78 31(2022).
15. E. G. Padilla Suarez, S. Pugliese, E. Galdiero, M. Guida, G. Libralato, L. Saviano, M. Spampinato, C. Pappalardo, A. Siciliano, *Environ. Pollut.* 337 (2023).
16. S. Li, Y. Cui, M. Wen, G. Ji, *Toxics* 11 (2023).



Toxicity assessment of atrazine-containing wastewater treated by an integrated HIFAS–algal photobioreactor system using *Daphnia Magna* bioassay

Zahra Derakhshan¹, Fatemeh Kazeruni², Nima Hooshmand Kouchak^{2*}

¹ Research Center for Health Sciences, Institute of Health, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

² Student Research Committee, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

Abstract: The removal of persistent pesticides such as atrazine from wastewater remains a major challenge in environmental health engineering. Innovative hybrid systems like the Hybrid Integrated Fixed-bed Algal System (HIFAS), combining biofilm-based reactors with algal photobioreactors, offer promising solutions. This study evaluated the performance of the HIFAS–algal photobioreactor in atrazine removal and, more importantly, in assessing real detoxification efficiency using the sensitive bioassay organism *Daphnia magna*. Synthetic wastewater containing atrazine at 1 and 10 mg/L was treated in a pilot-scale integrated HIFAS–algal photobioreactor. Acute toxicity tests were conducted with *D. magna* neonates (<24 h old) following OECD guidelines at exposure times of 24, 48, 72, and 96 hours. LC₅₀ values were determined using Probit analysis, and acute toxicity units (TUa) and reduction efficiency (R) were calculated. Results indicated that atrazine alone exhibited considerable toxicity, with LC₅₀ values of 11.13 and 111.31 mg/L after 48 hours for 1 and 10 mg/L, respectively. The integrated system showed excellent performance in short-term exposures (24–48 h), achieving 99.99% toxicity reduction (TUa < 0.0001). However, during prolonged exposures (72–96 h), residual toxicity appeared, and detoxification efficiency declined to about 32–38%. Overall, the HIFAS–algal photobioreactor effectively removed acute toxicity caused by atrazine, but reduced efficiency at longer exposure durations suggests the formation of stable by-products with potential chronic toxicity. These findings emphasize the need for chronic bioassays to ensure comprehensive assessment of treated effluent safety.

Keywords: *Daphnia magna*, Atrazine, HIFAS, Algal photobioreactor, Acute toxicity.