



بررسی سمیت محلول حاوی رنگزای آلی اسید-۴۰۹۲ بعد از فرآیند نانوفوتوکاتالیستی UV/ZnO با استفاده از آزمون زیستی دافنیا مگنیا

محمدهادی دهقانی^{۱*}، سیمین ناصری^۲، پروین مهدوی^۳، امیرحسین محوی^۴، کاظم ندافی^۱، غلامرضا جاهدخانیکی^۱
۱- دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۴۴۶-۱۴۱۵۵
۲- استاد، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۴۴۶-۱۴۱۵۵
۳- کارشناس ارشد، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۴۴۶-۱۴۱۵۵
۴- استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۴۴۶-۱۴۱۵۵
تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۰/۲/۱۳ در دسترس به صورت الکترونیکی از: ۱۳۹۰/۱۲/۲۰

چکیده

سمیت محلول رنگ اسیدی ۴۰۹۲ پس از تاثیر فرآیند نانوفوتوکاتالیستی UV/ZnO با استفاده از آزمون زیستی دافنیا مگنیا مورد بررسی قرار گرفت. دافنیا مگنیا به عنوان یک شاخص مناسب برای آزمایش سمیت پس از فاضلاب رنگی مورد استفاده قرار گرفته است. در این مطالعه پارامترهایی نظیر مقدار نانو ذرات اکسیدروی، pH و زمان تماس مورد آزمایش قرار گرفتند. این مطالعه نشان داد که سمیت در طی فرآیند نانوفوتوکاتالیستی UV/ZnO افزایش می‌یابد. به علاوه سمیت با زمان افزایش پیدا می‌کند. آزمون زیستی نشان داد که رنگزای اسیدی ۴۰۹۲ برای دافنیا مگنیا سمی است. مقادیر LC50-24 hr، LC50-72 hr، LC50-96 hr به ترتیب ۱۲۴٫۹، ۱۱۱٫۶، ۹۱٫۵۵ میلی‌گرم در لیتر بودند. واژه‌های کلیدی: سمیت، UV/ZnO، دافنیا مگنیا، رنگزای آلی اسیدی 4092، آزمون زیستی.

Evaluation of Acid 4092 Dye Solution Toxicity After UV/ZnO Mediated Nanophotocatalysis Process Using Daphnia Magna Bioassay

M. H. Dehghani*, S. Nasser, P. Mahdavi, A. H. Mahvi, K. Naddafi, Gh. R. Jahed

Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Institute for Environmental researches, Tehran University of Medical Sciences, P.O.Box: 14155-6446, Tehran, Iran

Received: 14-12-2010

Accepted: 03-05-2011

Available online: 10-03-2012

Abstract

The Acid 4092 dye solution toxicity after UV/ZnO mediated nanophotocatalysis process using Daphnia magna bioassay was investigated. Daphnia magna has been evaluated as suitable indicator to test effluent toxicity in dyes wastewater. In this study, the parameters such as ZnO nanoparticles load, pH and contact time were analyzed. This study showed that toxicity increases during the UV/ZnO nano-photocatalysis process. Besides, toxicity increases with time. LC50-24 hr, LC50-72 hr, and LC50-96 hr values were 124.9, 111.6, and 91.55 mg/l, respectively. J. Color Sci. Tech. 5(2012), 285-292© Institute for Color Science and Technology.

Keywords: Toxicity, Nanophotocatalysis, UV/ZnO, Daphnia magna, Acid 4092 dye, Bioassay.

۱- مقدمه

اغلب رنگزاهای آلی با استفاده از روش‌های تصفیه بیولوژیکی تقریباً غیر قابل تجزیه می‌باشند. همچنین روش‌هایی مثل کربن فعال، فوق صاف کردن، اسمز معکوس، لخته‌سازی، تبادل یونی و انواع روش‌های اکسیداسیون که معمولاً به طور مؤثری به کار گرفته می‌شود آن طور که می‌باید قادر نیستند مولکول آلاینده را کاملاً تخریب نمایند [۱۱-۱].

امروزه کاربرد فرآیند فوتوکاتالیستی که از جمله فرآیندهای پاک و دوست‌دار محیط زیست هستند در مقیاس وسیع مورد توجه قرار گرفته و در حال توسعه است. ناتوانی فرآیندهای تصفیه بیولوژیکی متداول در تجزیه مطلوب رنگ موجود در فاضلاب صنایع نساجی، باعث شده تا از تصفیه‌های شیمیایی و فیزیکی به عنوان یک مرحله پیش تصفیه ضروری قبل از فرآیندهای تصفیه بیولوژیکی استفاده شود این شرایط با بهبود قابلیت تجزیه بیولوژیکی رنگ و آلاینده‌های مقاوم، کاهش انرژی و هزینه مورد نیاز، کاهش اثر سمیت و بازدارندگی مواد رنگی بر راکتورهای بیولوژیکی، عملکرد پایدار و مطلوب‌تر تصفیه بیولوژیکی و کاهش تولید لجن همراه است. در این روش آلاینده‌های آلی غیر قابل تجزیه بیولوژیک در طی مرحله شیمیایی مورد تجزیه جزئی قرار گرفته و مراحل نهایی تا رسیدن به استانداردهای دفع پساب به محیط زیست در مرحله بیولوژیکی انجام می‌شود. سازوکار این فرآیندها بر پایه تشکیل گونه‌های بسیار فعال رادیکال‌های هیدروکسیل می‌باشند که قادرند طیف وسیعی از آلاینده‌ها را سریع و به طور غیر انتخابی تجزیه نمایند [۱۵-۱۱].

در بین انواع روش‌های اکسیداسیون پیشرفته، تجزیه با فوتوکاتالیزور نیمه رسانا ارجحیت بالایی پیدا کرده است. اغلب مطالعات فوتوکاتالیزوری از ZnO تجاری یا سنتتیک به عنوان فوتوکاتالیزور استفاده می‌کنند. نانوذرات اکسید روی به صورت فوتوکاتالیزور غیر سمی و دارای پایداری شیمیایی نسبی بسیار بالایی بوده و کارایی بالایی در تجزیه فوتوکاتالیزوری رنگزها در پساب صنایع رنگی و فاضلاب‌های صنعتی دارد. اکسیدروی (eV ۳,۲) به دلیل داشتن گاف انرژی یکسان و قیمت پایین، گزینه مناسبی در فرآیند تجزیه می‌باشد. بزرگ‌ترین مزیت ZnO در این است که بخش بزرگ‌تری از طیف UV را تا حد ۴۱۵ nm جذب می‌نماید. این امر امکان بهره‌گیری از فرآیندهای فوتوکاتالیزوری با استفاده از نور خورشید را فراهم می‌آورد [۱۵-۱۲].

مطالعات نشان داده است اغلب فاضلاب‌های صنعتی حاوی مقادیر زیادی از آلاینده‌ها هستند که آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی برای ارزیابی اثرات بالقوه و سمی آنها بر حیات آبیان، کافی نیست. لذا زیست‌آزمونی برای ارزیابی سمیت فاضلاب‌ها و آب‌های آلوده به پساب‌های صنایع نساجی و فاضلاب‌های رنگی ضروری خواهد بود. در بحث زیست‌آزمونی انواع مختلف موجودات زنده آبی نسبت به مواد سمی مشابه به یک اندازه حساس نیستند و موجوداتی که به یک

اندازه حساسند در مراحل مختلف زندگی حساسیت یکسانی ندارند. حتی موجوداتی که قبلاً در معرض مواد سمی قرار گرفته‌اند حساسیت متفاوتی از خود نشان می‌دهند [۲۱-۱۶].

مطالعات گوناگونی با استفاده از گونه‌های مختلف موجودات زنده مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، سلول‌های حیوانی زئوپلانکتون‌ها برای بررسی کارایی فرآیندهای اکسیداسیون پیشرفته در کاهش میزان سمیت آلاینده‌ها در محیط‌های آبی انجام شده است. نتایج آزمایشات انجام شده بر روی دافنیا مگنیا نشان دادند که این موجود، حساسیت بیشتری به آلودگی محیط دارد. بنابراین اندازه‌گیری سمیت محلول‌های آبی به دلیل احتمال تولید مواد واسطه سمی ضروری به نظر می‌رسد [۲۶-۲۲].

استفاده از دافنیا در مطالعات زیست‌آزمونی سابقه‌ای طولانی دارد. شاید بتوان گفت مزایای استفاده از دافنیا برای ارزیابی کیفیت پساب‌های صنعتی بویژه نساجی و رنگرزی که به آب‌های پذیرنده تخلیه می‌شوند از همه روش‌های زیست‌آزمونی بیشتر است و همین امر باعث توسعه روزافزون این روش در مقایسه با سایر روش‌های زیست‌آزمونی، گردیده است [۲۶-۲۲، ۱۴].

در این مطالعه سمیت محلول حاوی رنگزای آلی اسید-۴۰۹۲ بعد از فرآیند نانوفتوکاتالیستی UV/ZnO با استفاده از آزمون زیستی دافنیا مگنیا مورد بررسی قرار گرفته است. استفاده از دافنیا با توجه به زمان تولید مثل کوتاه، حساسیت بالا، ساده بودن آزمایش و پایین بودن هزینه‌های آزمایشگاهی و از همه مهم‌تر به خاطر توان بکرزایی و تولید نوزادهایی از یک جنس با همانندی ژنتیکی که در اعتبار نتایج حاصل بسیار مهم است، در این مطالعه مطرح شده است.

۲- روش تجربی

۲-۱- مواد

Wool Black - 4092 - Acid یکی از رنگزاهای اسیدی محلول در آب بوده که جهت رنگرزی الیاف استفاده می‌گردد. دلیل انتخاب این رنگز، استفاده گسترده از این رنگز در صنایع نساجی به ویژه در فرآیند رنگرزی الیاف و خامه فرش می‌باشد. این رنگز از کارگاه رنگرزی شهرستان تکاب تهیه گردید. فرمول شیمیایی این رنگز اسیدی $C_{22}H_{14}N_6Na_2O_9S_2$ می‌باشد. وزن ملکولی آن ۶۱۶,۴۶ و به رنگ قهوه‌ای تیره می‌باشد.

نانو ذرات اکسید روی به رنگ سفید متمایل به زرد، سطح ویژه $150 \text{ m}^2/\text{gr}$ - ۴۰ - چگالی 105 Kg/m^3 ، با درجه خلوص ۹۹,۸٪ و اندازه دانه ۱۲ - ۶ nm، از شرکت نانو پارس اسپادانا تهیه گردیدند.

راکتور مورد استفاده در این تحقیق شامل یک استوانه ته بسته به حجم ۳ لیتر و از جنس استیل زنگ نزن که ساخت شرکت تهران استیل ایران می‌باشد.

در این مطالعه همچنین جهت بررسی میزان رنگبری از دستگاه

اسپکتروفوتومتر مدل (Perkin-Elmer Lambda 25-UV/vis) استفاده و pH محلول رنگی با دستگاه (pH-meter E 250) اندازه‌گیری شد. آزمایشات براساس کتاب استاندارد مدت سال ۲۰۰۵ انجام گرفت [۲۸].

۲-۲- روش کار

دافنیای اولیه جهت کشت از محیط زندگی طبیعی آن به تعداد لازم صید شد. سپس در مرحله اول یکی از دافنیاهای صید شده به تنهایی در محیط مربوطه کشت داده شد. پس از آن که نوزادها به دنیا آمدند، نوزادها را نگهداری و تغذیه نموده تا به مرحله بلوغ و تولید مثل رسیدند. پس از آن نوزادها که دارای یک مادر اولیه بودند و در این مرحله به بلوغ رسیدند جهت کشت انبوه مورد استفاده قرار گرفتند. به این ترتیب به دلیل بکرزا بودن دافنیا در شرایط مساعد و مشترک بودن مادر اولیه، تمام نوزادهای حاصل از کشت، دارای همانندی ژنتیکی کاملی بودند. انجام کشت در آزمایشگاه میکروبیولوژی و محیط‌های کشت در معرض نور موجود در طول ساعات روز قرار گرفتند. کنترل دما به طور دائمی با یک دماسنج در محیط کشت انجام می‌گرفت. در طول مدت کشت، دما در حدود 1 ± 20 درجه سانتی‌گراد ثابت بود [۱۴، ۲۷].

پس از آماده‌سازی محلول رنگی به غلظت‌های ۰.۵، ۱، ۱.۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر، برای هر کدام از غلظت‌ها ۲ بشر ۲۰۰ میلی‌لیتری تهیه گردید. سپس نوزادهای دافنیا را که در محفظه کیسه‌ای مادر هر ۲۴ ساعت یک بار در 20°C یا ۱۲ ساعت یک بار در 25°C خارج می‌شدند، برداشته و در ظرفی جمع‌آوری گردیدند. سپس با استفاده از یک پیپت پاستور به همراه یک پودر، در هر ظرف آزمایش و ظرف شاهد ۱۰ نوزاد دافنیا وارد گردید، پس از وارد کردن نوزادها، مشاهده به صورت منظم و دقیق بعد از ۲، ۴، ۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انجام گرفت و تعداد دافنی‌های مرده (غیر متحرک) در هر ظرف ثبت گردید (حیوانی غیر متحرک تلقی می‌شود که حرکت مستقلی حتی پس از چرخاندن ظرف از خود نشان نمی‌دهد).

آزمایشات با استفاده از نانو ذرات اکسید روی به صورت سوسپانسیون با محلول سنتتیک حاوی رنگ به غلظت‌های ۰.۵، ۱، ۱.۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر انجام گرفت. بدین صورت که پس از تنظیم pH محلول رنگی با دستگاه (pH-meter E 250) و اضافه کردن نانو ذرات به محلول باغلظتی مشخص، اجازه داده شد تا محلول مورد نظر به مدت ۲۰ دقیقه در محیط تاریک روی هم‌زن مغناطیسی (Ika-werke) جهت اختلاط کامل باقی بماند. جداسازی نانو ذرات اکسید روی از محلول با استفاده از سانتریفوژ (مدل Hettich-Universal) rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه در دو مرحله صورت گرفت. سپس محلول مورد نظر به داخل راکتور فرابنفش انتقال داده شد تا تحت پرتوتابی فرابنفش قرار گیرد. در این راکتور به علت ایجاد گرمای زیاد که به علت پرتوتابی لامپ فرابنفش می‌باشد از خنک کننده برای پایین آوردن دما استفاده گردید.

از طرفی جهت بررسی کارایی راکتور نانوفوتوکاتالیستی در کاهش سمیت محلول رنگی، نمونه سنتتیک با غلظت ۲ mg/l از رنگ Acid-4092 که بهترین شرایط را از نظر بازده فرآیند نانوفوتوکاتالیستی (مدت زمان حذف کامل رنگ - نانو ذرات ZnO - pH=۱۰) دارد، در داخل راکتور قرار گرفت. پس از گذشت مدت زمان لازم، درصدهای حجمی مختلف از ۱۰٪ تا ۱۰۰٪ نمونه مورد آزمون سمیت قرار گرفتند. یکی از ظروف به عنوان ظرف شاهد در نظر گرفته شد به طوری که غلظت ماده سمی در این ظرف صفر می‌باشد. مشاهدات به صورت دقیق بعد از ۲، ۴، ۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ ساعت انجام گرفت و تعداد حیوانات غیر متحرک در هر آزمایش ثبت گردیدند.

ارزیابی و تحلیل داده‌ها و محاسبه غلظت کشنده ۵۰ با روش آماری پروبیت^۱ صورت پذیرفت. از تقسیم عدد ۱۰۰ بر غلظت کشنده ۵۰ نیز واحد سمیت محاسبه گردید.

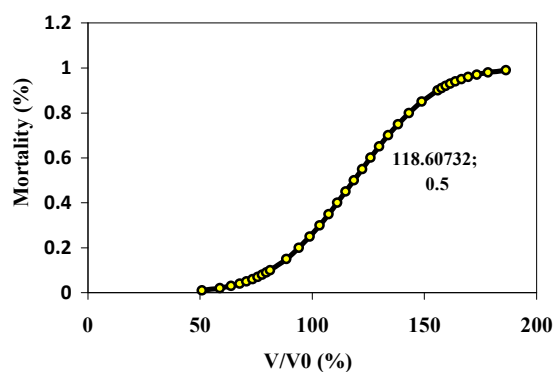
۳- نتایج و بحث

در جدول ۱ اطلاعات به دست آمده از آزمایش سمیت نمونه‌های سنتتیک بر روی دافنیا مگنیا ارائه شده است. نمونه سنتتیک از رنگزای Acid-4092 با بالاترین غلظت مورد آزمایش (۲ میلی‌گرم بر لیتر) تهیه شده و به ترتیب ۱۰ تا ۱۰۰ درصد حجمی (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰) نمونه سنتتیک و یک نمونه شاهد با سه بار تکرار آزمایش، مورد آزمون سمیت قرار گرفت. با توجه به این که تعداد اولیه دافنیا مگنیا در هر ظرف نمونه ۱۰ عدد بوده، تعداد دافنیای مرده پس از طی زمان ۲، ۴، ۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت شمارش شدند. همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد پس از طی زمان‌های آزمایش ۲، ۴، ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت، برای هیچ کدام از درصدهای حجمی ۱۰ تا ۱۰۰ درصد حجمی نمونه سنتتیک، تعداد دافنیای مرده مشاهده نشد. طبق نتایج حاصل از آزمایشات، چون برای زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۲۴ و ۴۸ تعداد دافنیای مرده مشاهده نشده بود، لذا این آزمون فقط برای زمان‌های ۷۲ و ۹۶ ساعت انجام گردید.

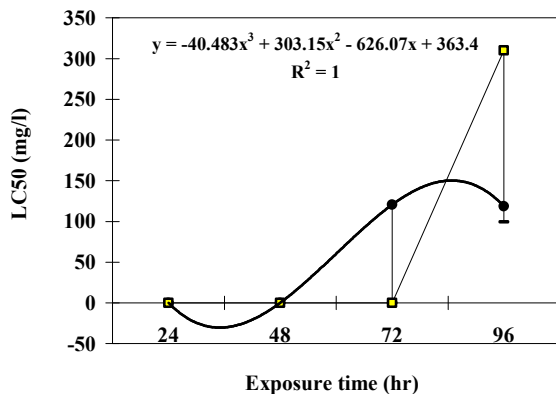
جدول ۲ نتایج مشاهده شده و مورد انتظار و پروبیت حاصل از آزمون انجام شده برای زمان ۷۲ ساعت آزمایش سمیت نمونه‌های سنتتیک را نشان می‌دهد که طبق داده‌های این جدول، شکل ۱ به دست می‌آید. شکل ۱ احتمال مرگ دافنیا را در درصدهای حجمی مختلف نمونه‌های سنتتیک و در زمان ۷۲ ساعت آزمایش نشان می‌دهد. طبق این شکل $LC_{50} - 72 \text{ hr}$ برابر با ۱۲۰.۵ میلی‌گرم بر لیتر به دست می‌آید. لذا ملاحظه می‌شود رنگزا واجد درجاتی از سمیت می‌باشد.

جدول ۳ نتایج مشاهده شده و مورد انتظار و پروبیت، برای زمان ۹۶ ساعت آزمایش سمیت نمونه‌های سنتتیک را نشان می‌دهد. طبق داده‌های این جدول، شکل ۲ به دست می‌آید. این شکل احتمال مرگ دافنیا مگنیا را در درصدهای حجمی مختلف نمونه‌های سنتتیک در

1- Probit



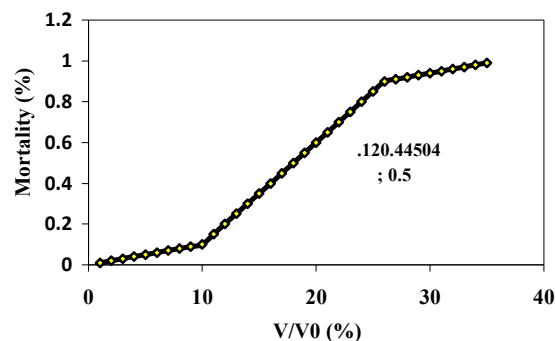
شکل ۲: احتمال مرگ درصدهای حجمی مختلف Acid-4092 و تعیین LC₅₀ - 96 hr



شکل ۳: LC₅₀های حاصل از سمیت نمونه‌های سنتتیک بر روی دافنیا مگنیا در طول زمان.

دوره ۹۶ ساعت آزمایش نشان می‌دهد. براساس شکل ۲ LC₅₀-96 hr برابر با ۱۱۸,۶ میلی‌گرم بر لیتر به دست می‌آید. لذا می‌توان نتیجه گرفت که سمیت رنگزا بعد از دوره ۹۶ ساعته افزایش یافته است.

جدول ۴ نتایج کلی از آزمایشات زیست آزمون رنگزای Acid-4092 را در طی یک دوره ۷۲ و ۹۶ ساعته نشان می‌دهد. در این جدول LC₅₀ و TU برای هر کدام از زمان‌های مورد آزمایش ارائه شده است. LC₅₀ برای زمان‌های ۷۲ و ۹۶ ساعت به ترتیب برابر با ۱۲۰,۵ mg/l و ۱۱۸,۶ mg/l و همچنین TU برای ۷۲ و ۹۶ ساعت به ترتیب ۰,۸۲ و ۰,۸۴ به دست آمد. این نتایج نشان می‌دهد که شاخص سمیت بعد از دوره ۹۶ ساعت از ۰,۸۲ به ۰,۸۴ افزایش یافته است. شکل ۳ LC₅₀های حاصل از سمیت نمونه‌های سنتتیک را بر روی دافنیا مگنیا در زمان‌های آزمایش ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت نشان می‌دهد. آزمایش سمیت بر روی دافنیا مگنیا با استفاده از نمونه‌های خروجی از راکتور نانوفتوکاتالیستی UV/ZnO در شرایط بهینه راکتور (ZnO = ۰,۲ gr/l، غلظت نمونه ۲ میلی‌گرم در لیتر، زمان تماس ۱۲ دقیقه، pH = ۱۰) انجام گردید.



شکل ۴: احتمال مرگ درصدهای حجمی مختلف Acid-4092 و تعیین LC₅₀-72 hr

جدول ۱: اطلاعات آزمایش سمیت بر روی دافنیا مگنیا با استفاده از نمونه‌های مصنوعی (تعداد اولیه دافنیا = ۱۰).

| ۹۶hr | تعداد دافنیای مرده در طی آزمایش | | | | | ۲ hr | درصد حجمی نمونه سنتتیک (%) |
|------|---------------------------------|-------|------|-----|-----|------|----------------------------|
| | ۷۲hr | ۴۸ hr | ۲۴hr | ۶hr | ۴hr | | |
| . | . | . | . | . | . | . | ۱۰ |
| . | . | . | . | . | . | . | ۲۰ |
| . | . | . | . | . | . | . | ۳۰ |
| . | . | . | . | . | . | . | ۴۰ |
| . | . | . | . | . | . | . | ۵۰ |
| . | . | . | . | . | . | . | ۶۰ |
| ۱ | . | . | . | . | . | . | ۷۰ |
| ۱ | . | . | . | . | . | . | ۸۰ |
| ۲ | ۱ | . | . | . | . | . | ۹۰ |
| ۲ | ۱ | . | . | . | . | . | ۱۰۰ |
| . | . | . | . | . | . | . | شاهد |

جدول ۲: نتایج مشاهده شده و مورد انتظار (۷۲ساعته).

| پروبیوت | باقی مانده | نتایج مورد انتظار | تعداد مرده | تعداد اولیه | درصد حجمی رنگ (%) |
|----------|-------------|-------------------|------------|-------------|-------------------|
| ۱,۱E-۰,۹ | ۰,۰۰۰ | ۰,۰۰۰ | ۰ | ۱۰ | ۱۰ |
| ۰,۰۰۰۰۰۰ | ۰,۰۰۰ | ۰,۰۰۰ | ۰ | ۱۰ | ۲۰ |
| ۰,۰۰۰۰۰۰ | ۰,۰۰۰ | ۰,۰۰۰ | ۰ | ۱۰ | ۳۰ |
| ۰,۰۰۰۰۰۱ | ۰,۰۰۰ | ۰,۰۰۰ | ۰ | ۱۰ | ۴۰ |
| ۰,۰۰۰۰۰۷ | -۰,۰۰۱ | ۰,۰۰۱ | ۰ | ۱۰ | ۵۰ |
| ۰,۰۰۰۰۵۳ | -۰,۰۰۵ | ۰,۰۰۵ | ۰ | ۱۰ | ۶۰ |
| ۰,۰۰۰۳۱۲ | -۰,۰۳۱ | ۰,۰۳۱ | ۰ | ۱۰ | ۷۰ |
| ۰,۰۱۴۱۷ | -۰,۱۴۲ | ۰,۱۴۲ | ۰ | ۱۰ | ۸۰ |
| ۰,۰۴۹۴۴ | ۰,۵۰۶ | ۰,۴۹۴ | ۱ | ۱۰ | ۹۰ |
| ۰,۱۳۳۸۷ | -۰,۳۳۹ | ۱,۳۳۹ | ۱ | ۱۰ | ۱۰۰ |
| ۳,۳E-۱۱ | -۳,۳۱۰۶E-۱۰ | ۳,۳۱۰۶E-۱۰ | ۰ | ۱۰ | ۰ |

جدول ۳: نتایج مشاهده و مورد انتظار (۹۶ ساعته).

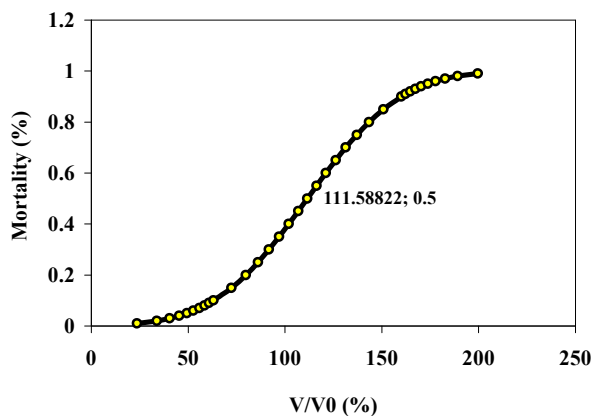
| پروبیوت | باقی مانده | نتایج مورد انتظار | تعداد مرده | تعداد اولیه | درصد حجمی رنگ (%) |
|----------|------------|-------------------|------------|-------------|-------------------|
| ۰,۰۰۰۰۰۹ | -۰,۰۰۱ | ۰,۰۰۱ | ۰ | ۱۰ | ۱۰ |
| ۰,۰۰۰۰۳۵ | -۰,۰۰۴ | ۰,۰۰۴ | ۰ | ۱۰ | ۲۰ |
| ۰,۰۰۰۱۱۶ | -۰,۰۱۲ | ۰,۰۲۰ | ۰ | ۱۰ | ۳۰ |
| ۰,۰۰۰۳۴۵ | -۰,۰۳۴ | ۰,۰۳۴ | ۰ | ۱۰ | ۴۰ |
| ۰,۰۰۰۹۱۸ | -۰,۰۹۲ | ۰,۰۹۲ | ۰ | ۱۰ | ۵۰ |
| ۰,۰۲۱۹۸ | -۰,۲۲۰ | ۰,۲۲۰ | ۰ | ۱۰ | ۶۰ |
| ۰,۰۴۷۳۹ | ۰,۵۲۶ | ۰,۴۷۴ | ۱ | ۱۰ | ۷۰ |
| ۰,۰۹۲۲۵ | ۰,۰۷۷ | ۰,۹۲۳ | ۱ | ۱۰ | ۸۰ |
| ۰,۱۶۲۷۳ | ۰,۳۷۳ | ۱,۶۲۷ | ۲ | ۱۰ | ۹۰ |
| ۰,۲۶۱۲۲ | -۰,۶۱۲ | ۲,۶۱۷ | ۲ | ۱۰ | ۱۰۰ |
| ۰,۰۰۰۰۰۲ | ۰,۰۰۰ | ۰,۰۰۰ | ۰ | ۱۰ | ۰ |

جدول ۴: نتایج به دست آمده از آزمایش سمیت نمونه‌های سنتتیک بر روی دافنیا مگنیا.

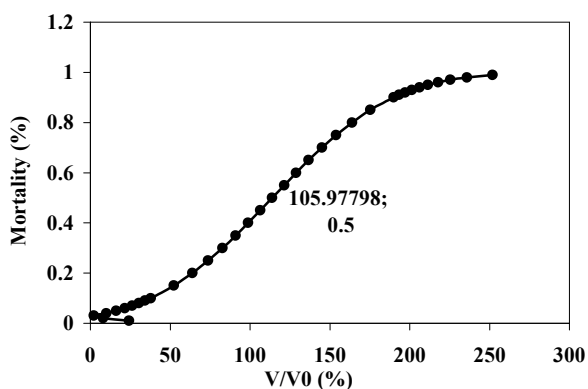
| معیار مورد نظر | زمان (ساعت) | | | |
|---|---------------|-------|----|----|
| | ۹۶ | ۷۲ | ۴۸ | ۲۴ |
| LC ₅₀ (mg/l)(*) | ۱۱۸,۶ | ۱۲۰,۵ | - | - |
| حد بالای LC ₅₀ (۹۵٪ اطمینان) (mg/l) | ۳۱۰,۱ | - | - | - |
| حد پایین LC ₅₀ (۹۵٪ اطمینان) (mg/l) | ۹۹,۶ | - | - | - |
| TU(**) | ۰,۸۴ | ۰,۸۲ | - | - |

*Lethal concentration % 50

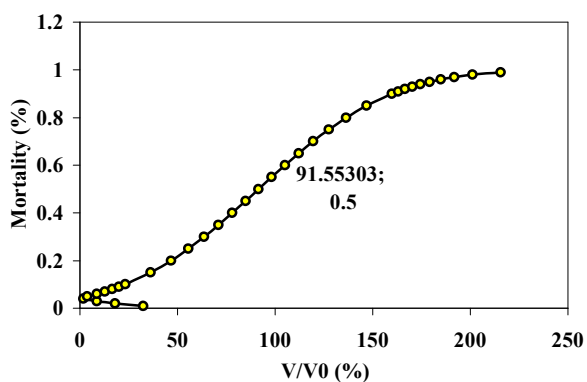
**Toxicity unit



شکل ۵: احتمال مرگ در درصدهای حجمی مختلف نمونه‌های خروجی از راکتور نانوفتوکاتالیستی UV/ZnO و تعیین $LC_{50} - 48$ hr.



شکل ۶: احتمال مرگ در درصدهای حجمی مختلف نمونه‌های خروجی از راکتور نانوفتوکاتالیستی UV/ZnO و تعیین $LC_{50} - 72$ hr.

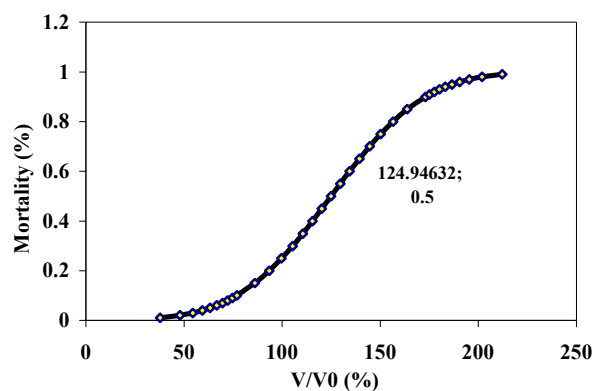


شکل ۷: احتمال مرگ در درصدهای حجمی مختلف نمونه‌های خروجی از راکتور نانوفتوکاتالیستی UV/ZnO و تعیین $LC_{50} - 96$ hr.

نتایج نشان داد با توجه به تعداد اولیه دافنیا در هر ظرف (۱۰ عدد)، برای زمان‌های ۲، ۴ و ۶ ساعت در هیچ کدام از درصدهای حجمی نمونه و شاهد، دافنیای مرده وجود ندارد. تعداد دافنیای مرده در زمان ۲۴ ساعت آزمایش برای درصدهای حجمی ۱۰ تا ۱۰۰ درصد نمونه ی خروجی از راکتور به ترتیب صفر، صفر، صفر، صفر، ۱، ۱، ۱، ۲، ۲، ۳، ۳، ۳، ۴، ۴، ۵، ۵ بوده ولی در نمونه شاهد دافنیای مرده مشاهده نشد.

نتایج مشاهده شده و مورد انتظار و پروبیت حاصل از آزمون انجام یافته برای زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت آزمایش سمیت نمونه‌های خروجی از راکتور نشان داد که $LC_{50} - 24$ hr به ترتیب برابر با ۱۲۴،۹ (شکل ۴) و ۱۱،۶ میلی‌گرم بر لیتر (شکل ۵) می‌باشد. برای زمان ۷۲ ساعت، $LC_{50} - 72$ hr برابر با ۱۰۶ میلی‌گرم بر لیتر بوده که از $LC_{50} - 24$ hr و $LC_{50} - 48$ hr کمتر می‌باشد (شکل ۶). همچنین نتایج مشاهده شده برای زمان ۹۶ ساعت آزمایش سمیت (شکل ۷) نشان داد که $LC_{50} - 96$ hr برابر با ۹۱،۵۵ میلی‌گرم بر لیتر است که از $LC_{50} - 24$ hr و $LC_{50} - 48$ hr و $LC_{50} - 72$ hr کوچک‌تر می‌باشد.

جدول ۵ نتایج کلی حاصل از آزمایشات زیست آزمونی نمونه‌های خروجی از راکتور نانوفتوکاتالیستی UV/ZnO را نشان می‌دهد. در این جدول مقادیر TU و LC_{50} برای زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه شده است. نتایج این جدول نشان می‌دهد که $LC_{50} - 96$ hr از همه کوچک‌تر بوده و سمیت در این زمان بیشتر می‌باشد.



شکل ۸: احتمال مرگ در درصدهای حجمی مختلف نمونه‌های خروجی از راکتور نانوفتوکاتالیستی UV/ZnO و تعیین $LC_{50} - 24$ hr.

جدول ۵: نتایج به دست آمده از آزمایش سمیت نمونه‌های خروجی از راکتور نانوفتوکاتالیستی UV/ZnO بر روی دافنیا مگنیا.

| معیار مورد نظر | زمان (ساعت) | | | |
|--|---------------|-------|-------|-------|
| | ۹۶ | ۷۲ | ۴۸ | ۲۴ |
| LC ₅₀ (mg/l) | ۹۱,۵۵ | ۱۰۶ | ۱۱۱,۶ | ۱۲۴,۹ |
| حد بالای LC ₅₀ (mg/l) (۹۵٪ اطمینان) | ۱۲۹,۹ | ۱۵۶,۳ | ۱۷۳,۹ | ۳۰۳,۵ |
| حد پایین LC ₅₀ (mg/l) (۹۵٪ اطمینان) | ۷۵,۲ | ۸۸,۳ | ۹۳,۶ | ۱,۱ |
| TU | ۱,۱ | ۰,۹۴ | ۰,۹ | ۰,۸ |

فرآیند فتولیز - پراکسید هیدروژن حتی با حذف ۱۰۰٪ رنگ‌های راکتیو سیاه ۵ افزایش یافته و دلیل آن را احتمالاً حضور پراکسید هیدروژن در نمونه‌های مورد آزمایش ذکر نموده‌اند [۱۵]. لذا براساس مطالعات انجام شده، روش‌های مختلف حذف رنگ منجر به تولید محصولات جانبی متفاوتی از یک نوع رنگزا خواهد شد که از لحاظ سمیت با هم تفاوت دارند [۲۶-۲۱].

۴- نتیجه‌گیری

آزمایش زیست‌آزمونی در تکمیل مطالعات مربوطه جهت تعیین سمیت محلول خروجی از راکتور و محلول‌های سنتتیک از آزمایشات ساده و ارزان قیمت می‌باشد. بنابراین از این نوع آزمون‌ها می‌توان جهت انتخاب روش مناسب برای حذف آلاینده مورد نظر استفاده کرد. بنابراین در این مطالعه سمیت محلول حاوی رنگزای آلی اسید-۰۹۲ بعد از فرآیند نانوفتوکاتالیستی با استفاده از آزمون زیستی دافنیا مگنیا مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر LC₅₀ و TU نشان داد که طی فرآیند UV/ZnO با افزایش درصد حجمی محلول خروجی از راکتور و با گذشت زمان، سمیت افزایش پیدا کرده است. بدین ترتیب میزان کاهش سمیت رنگزا نیز طی فرآیند مذکور کاهش می‌یابد. افزایش سمیت طی فرآیند احتمالاً مربوط به تشکیل ترکیبات واسطه سمی در حین واکنش، وجود پراکسید هیدروژن مازاد در محلول، وجود ZnO مازاد در محلول و یا سمیت ZnO و اثر آن در مرگ دافنیا می‌باشد. بنابراین فرآیند نانوفتوکاتالیستی به عنوان یک فرآیند غالب برای تخریب رنگزای مورد مطالعه، توانایی لازم را دارا می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۸۸-۰۲-۴۶-۸۷۱۵ بوده که با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است.

۱-۳- نتایج حاصل از زیست‌آزمونی جهت تعیین LC₅₀ رنگ

هدف از انجام این مرحله از آزمایش‌ها به دست آوردن مقادیر LC₅₀ در زمان‌های مختلف با استفاده از درصدهای حجمی مختلف رنگ در غلظت ۲ میلی‌گرم بر لیتر بود. در این مرحله نمونه‌های رنگ در غلظت‌های حجمی ۱۰ تا ۱۰۰٪ در یک سری ۳ تایی تهیه و یک ظرف نیز به عنوان شاهد بدون وجود ماده رنگی تهیه شد. حجم نمونه در هر یک از ظروف ۲۰۰ میلی‌لیتر بود. تعداد نوزاد دافنیا رها شده در هر ظرف ۱۰ عدد بود. نتایج آزمایش‌ها موقعی قابل قبول تلقی می‌شود که حداکثر ۱۰٪ از نوزادهای دافنیا در ظرف شاهد مرده باشد. در این آزمایش‌ها، تعداد نوزادهای مرده در ظرف شاهد صفر بود. مقادیر LC₅₀-96 hr ، 72 hr ، LC₅₀-96 hr به ترتیب برابر با ۱۲۰,۵ mg/l و ۱۱۸,۶ mg/l و واحد سمیت TU-72hr و TU-96hr به ترتیب برابر با ۰,۸۲ و ۰,۸۴ به دست آمد. لذا می‌توان گفت که محلول سنتتیک نسبت به محلول خروجی از راکتور واجد درجات کمتری از سمیت می‌باشد.

۲-۳- افزایش سمیت محلول خروجی طی فرآیند نانوفتوکاتالیستی

در این تحقیق جهت بررسی سمیت محلول خروجی از فرآیند نانوفتوکاتالیستی UV/ZnO از دافنیا مگنیا استفاده شده است مقادیر LC₅₀-24 hr ، LC₅₀-48 hr ، LC₅₀-72 hr ، LC₅₀-96 hr به ترتیب برابر با ۱۲۴,۹ میلی‌گرم بر لیتر، ۱۱۱,۶ میلی‌گرم بر لیتر، ۱۰۶ میلی‌گرم بر لیتر، ۹۱,۵۵ میلی‌گرم بر لیتر و TU به ترتیب برای هر کدام ۰,۸، ۰,۹، ۰,۹۴ و ۱,۱ به دست آمد.

نتایج متفاوت و مشابهی توسط محققان در مورد تجزیه نانوفتوکاتالیستی UV/ZnO رنگ و کاهش سمیت آن گزارش شده است. از طرفی نتایج مشابهی توسط سایرین در حین تجزیه رنگ و افزایش سمیت گزارش شده است [۲۶-۱۲]. همچنین برخی محققان در مورد رنگ‌های راکتیو سیاه ۵ و دیسپرس نارنجی ۲۵ در طی فرآیندهای اکسیداسیون پیشرفته گزارش کردند که سمیت بعد از

۵- مراجع

1. M. H. Dehghani, J. Jaafari, A. Alghasi, Gh. Porkar, Using medium pressure ultraviolet reactor for removing azo dyes in textile wastewater treatment plant. *World Appl. Sci. J.* 12(2011), 797-802.
2. M. H. Dehghani, A. R. Mesdaghinia, S. Nasser, A. H. Mahvi, K. Azam. Application of SCR technology for degradation of reactive yellow dye in aqueous solution. *Water Qual. Res. J. Can.* 43(2008), 183-187.
3. N. M. Mahmoodi, M. Arami, K. Gharanjig, F. Nourmohammadian, Decolorization and mineralization of basic dye using nanophotocatalysis: Pilot scale study. *J. Color Sci. Tech.* 1(2007), 1-6.
4. N. Daneshvar, V. Vatanpour, A. R. Khataee, M. H. Rasoulifard, M. Rastegar, Decolorization of mixture of dyes containing malachite green and orange II by Fenton-like reagent. *J. Color Sci. Tech.* 1(2008), 83-89.
5. N. M. Mahmoodi, K. H. Rayat-Tari, S. Borhany, M. Arami, F. Nourmohammadian, Decolorization of colored wastewater containing azo acid dye using Photo-Fenton process: Operational parameters and a comparative study. *J. Color Sci. Tech.* 2(2008), 31-40.
6. A. R. Tehrani-Bagha, N. M. Mahmoodi, M. Arami, Study of the effective parameters on decolorization of C.I. reactive black 5 wastewater by ozonation. *J. Color Sci. Tech.* 2(2008), 67-75.
7. A. R. Tehrani-Bagha, F. L. Amini, Decolorization of a reactive dye by UV-enhanced ozonation. *Prog. J. Color Colorants Coat.* 3(2010), 1-8.
8. A. Dalvand, M. Gholami, A. Joneidi, N. M. Mahmoodi, Investigation of electrochemical coagulation process efficiency for removal of reactive red 198 from colored wastewater. *J. Color Sci. Tech.* 3(2009), 97-105.
9. F. Emami, A. R. Tehrani-Bagha, K. Gharanjig, Influence of operational parameters on the decolorization of an azo reactive dye (C.I. reactive red 120) by Fenton process. *J. Color Sci. Tech.* 4(2010), 105-114.
10. A. R. Tehrani-Bagha, F. L. Amini, Decolorization of wastewater containing C. I. reactive red 120 by UV-enhanced ozonation. *J. Color Sci. Tech.* 4(2010), 151-160.
11. M. Nicolaou, I. Hadjvassilis, Treatment of wastewater from textile industry. *J. Water Sci. Technol.* 25(1992), 31-35.
12. B. Pare, S. B. Jonnal agadda, H. Tomar, P. B. H. Singh, V. W. Agwat, ZnO assisted photocatalytic degradation of acridine orange aqueous solution using visible irradiation. *J. Photochem. Photobiol. B.* 94 (2009), 20 - 24.
13. M. A. Behnajady, N. Modirshahi, R. Hamzavi, Kinetic study on photocatalytic degradation C. I. acid yellow 23 by ZnO photocatalysis. *J. Hazard. Mater.* 133 (2006), 226 -232.
14. A. H. Mahvi, M. Ghanbarian, K. Naddafi, N. M. Mahmoodi, Investigation of the toxicity reduction in reactive dye solution and real textile wastewater by nanophotocatalysis process using *Daphnia magna*. *J. Color Sci. Tech.* 1(2008), 91-96.
15. A. Maleki, R. Rezaee, Toxicity reduction of reactive black 5 and disperse orange 25 by advanced oxidation processes. *J. Color Sci. Tech.* 3(2009), 17-23.
16. R. Fernandez-Alba, D. Hernando, A. Aguera, J. Caceres, S. Malato, Toxicity assays; a way for evaluating AOPs efficiency. *J. Water Res.* 36 (2002), 4255-4262.
17. J. L. Slabert, E. A. Venter, Biological assay for aquatic toxicity testing. *J. Water Sci. Technol.* 39(1999), 367-373.
18. A. Gottlieb, C. Shaw, A. Smith, A. Wheatley, S. Forsythe, The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation. *J. Biotechnol.* 101(2003), 49-56.
19. J. S. Bae, H. S. Freeman, Aquatic toxicity evaluation of new direct dyes to the *Daphnia magna*. *Dyes Pigm.* 73(2007), 81-85.
20. A. Villegas-Navarro, M. C. R Gonzalez, E. R. Lopez, R. D. Aguilar, W. S. Marcal, Evaluation of *daphnia magna* as an indicator of toxicity and treatment efficacy of textile wastewaters. *Environ. Int.* 25(5) (1999), 619-624.
21. Y. Verma, S. G. Ruparelia, M. C. Hargan Venkaiah, P. K. Kulkarni, Acute toxicity of azo-dyes to waterflea, *Daphnia magna*. *Indian J. Environ. Protec.* 13(1993), 804-07.
22. J. S. Bae, H. S. Freeman, Aquatic toxicity evaluation of new direct dyes to *Daphnia magna*. *Dyes Pigm.* 73(2007), 81-85.
23. A. Gottlieb, C. Shaw, C. Smith, A. Wheatley, S. Forsyth, Toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation. *J. Biotech.* 101(2003), 49-56.
24. H. Movahedian, B. Bina, G. H. Asghari, Toxicity evaluation of wastewater treatment plant effluents using *Daphnia magna*. *Iran J. Environ Health Sci. Eng.* 2 (2005), 1-4.
25. L. Manusadzianas, K. Sadauskas, R. Vitkus, Comparative study of indices used in toxicity evaluation of effluents. *J. Desalination.* 250(2010), 383-389.
26. R. Fernandez-Alba, D. Hernando, A. Aguera, J. Caceres, S. Malato, Toxicity assays; A way for evaluating AOPs efficiency. *J. Water Res.* 36 (2002), 4255-4262.
27. A. Munzinger, F. Monicelli, A comparison of the sensitivity of three *Daphnia magna* populations under chronic heavy metal stress. *J. Ecotox. Environ. Safe.* 22(1)(1994), 435-440.
28. U.S. Environmental protection Agency. Method for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms, 5th Ed, EPA-821-R-02-012. 2002.
29. APHA., Standard methods for the examination of water and wastewater, Washington DC., 2005.