



شرکت مهندسی آب و فاضلاب کشور

دستورالعمل استفاده از سنسورهای زیستی (ماهی زبرا) برای پایش کیفیت آب
به صورت آنلاین و در شرایط بحران
نسخه اولیه و آزمایشی

تیر ۱۴۰۴
دفتر بهداشت آب و فاضلاب
شرکت مهندسی آب و فاضلاب کشور

کمیته فنی تدوین دستورالعمل

رئیس:

منتظری، احمد

(کارشناسی ارشد مهندسی محیط زیست-آب و فاضلاب)

سمت و یا محل اشتغال:

مدیر کل دفتر بهداشت آب و فاضلاب، شرکت مهندسی آب و فاضلاب کشور

دبیران: (به ترتیب حروف الفبا)

اکبری جونوش، زهره (دکتری مهندسی بهداشت محیط)

کارشناس دفتر بهداشت آب و فاضلاب، شرکت مهندسی آب و فاضلاب کشور

سید علی قاسمی (دکتری مهندسی عمران-آب)

رئیس گروه کنترل کیفیت آب شرکت آب و فاضلاب مشهد

اعضا (به ترتیب حروف الفبا):

ادیبی نیا، محمد جواد (کارشناسی ارشد محیط زیست)

مدیر مرکز پایش و نظارت بر کیفیت آب و فاضلاب خراسان رضوی

جواد، نسرین (دکتری شیمی)

مدیر مرکز پایش و نظارت بر کیفیت آب و فاضلاب استان قزوین

راستین، علی (کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت حرفه ای)

مدیر مرکز پایش و نظارت بر کیفیت آب و فاضلاب استان لرستان

زمان پور، مهرداد (دکتری اکولوژی-اکوسیستم های آب شیرین)

دانشیار پژوهش و رئیس گروه آب زیان. سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز شیراز

شقاقی، غلامرضا (دکتری مهندسی محیط زیست گرایش آب و فاضلاب)

رئیس گروه بهداشت آب و فاضلاب وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

شهبازی، ندا (دکتری شیمی تجزیه)

کارشناس دفتر بهداشت آب و فاضلاب، شرکت مهندسی آب و فاضلاب کشور

طالبی، سهراب (کارشناسی ارشد مهندسی عمران- مهندسی و مدیریت منابع آب)

مدیر مرکز پایش و نظارت بر کیفیت آب و فاضلاب استان آذربایجان غربی

عبداله زاده، محمد (دکتری مهندسی آب و فاضلاب)

کارشناس دفتر بهداشت آب و فاضلاب، شرکت مهندسی آب و فاضلاب کشور

قربان زاده، آرمان (دکتری تخصصی بهداشت و بیماری های آب زیان)

عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی علوم و تحقیقات مدیر گروه بهداشت و رئیس مرکز تحقیقات بهداشت مواد غذایی و سلامت آب زیان کارشناس گروه بهداشت آب و فاضلاب وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

کردونی، هدی (کارشناسی ارشد آموزش محیط زیست)

مظفری، زهره (کارشناسی ارشد شیمی آلی)

مدیر مرکز پایش و نظارت بر کیفیت آب و فاضلاب شیراز

مددی، معظمه (کارشناسی ارشد مهندسی شیمی)

رئیس گروه کنترل کیفیت فاضلاب شرکت آب و فاضلاب استان قزوین

هادی، مهدی (دکتری مهندسی بهداشت محیط)

دانشیار مرکز تحقیقات کیفیت آب، پژوهشکده محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده :

این دستورالعمل چارچوبی عملی و علمی برای راهاندازی سامانه پایش آلودگی آب با استفاده از ماهی زبرا (*Danio rerio*) به عنوان بیوسنسور زیستی ارائه می‌دهد. ماهی زبرا به دلیل حساسیت بالا به سموم شیمیایی و زیستی، شباهت ژنتیکی به انسان (حدود ۷۰٪)، و رفتارهای قابل مشاهده، ابزاری مؤثر برای تشخیص زودهنگام آلاینده‌ها در شرایط بحران است. این روش بر پایه استانداردهای بین‌المللی مانند OECD 203 (آزمون سمیت حاد ماهی) و ZFET (آزمون سمیت حاد جنین ماهی زبرا) بنا شده و شامل مراحل راهاندازی، کنترل پارامترهای محیطی، و تعیین حدود سمیت می‌باشد. هدف، فراهم کردن ابزاری مقرون‌به‌صرفه برای پایش آنلاین آب شرب با تمرکز بر سموم زیستی (مانند بوتولینوم)، فلزات سنگین (مانند آرسنیک)، و آفت‌کش‌ها (مانند مالاتیون) است. این رویکرد، مکمل روش‌های شیمیایی استاندارد بوده و نمی‌تواند جایگزین آنها شود.

نکته:

این دستورالعمل در چند گام تکمیل خواهد شد. گام اول با تکیه بر پایش بصری رفتار ماهی‌ها، گام دوم حرکت به سمت مجهز نمودن آکواریوم‌ها به سنسورهای نوری و یا دوربین جهت آنالیز دقیق رفتار ماهی زبرا و تجهیز آکواریوم‌ها به سیستم هشدار عمومی و گام سوم حرکت به سمت استفاده همزمان از ماهی زبرا و دافنی جهت پایش کیفیت آب.

۱- مقدمه

در دنیای امروز، حفاظت از منابع آبی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین چالش‌های زیست‌محیطی و بهداشتی مطرح است. آلودگی آب با سموم شیمیایی (مانند فلزات سنگین و آفت‌کش‌ها) و زیستی (مانند سم بوتولینوم و ریسین) می‌تواند تهدیدی جدی برای سلامت انسان، اکوسیستم‌ها و امنیت جوامع باشد، به‌ویژه در شرایط بحرانی مانند آلودگی‌های عمده یا بیوتروریسم. در این میان، سنسورهای زیستی به‌عنوان ابزاری نوین، سریع و مقرون‌به‌صرفه برای پایش کیفیت آب جایگاه ویژه‌ای یافته‌اند. استفاده از موجودات زنده مانند ماهی زبرا^۱ و دافنی^۲ به‌عنوان بیوسنسورهای زیستی، امکان تشخیص زودهنگام آلاینده‌ها را با دقت و حساسیت بالا فراهم می‌کند. ماهی زبرا به دلیل شباهت ژنتیکی قابل توجه به انسان (حدود ۷۰٪ ژنوم مشترک) و حساسیت بالا به طیف وسیعی از سموم، از جمله فلزات سنگین (مانند آرسنیک و جیوه)، آفت‌کش‌های ارگانوفسفره (مانند مالاتیون) و سموم زیستی مرتبط با بیوتروریسم (مانند سارین و سم بوتولینوم)، ابزاری مؤثر برای پایش آب است. تغییرات رفتاری مانند تشنج، شنا به‌صورت نامنظم یا مرگ در این ماهی به‌سرعت قابل مشاهده است و می‌تواند به‌عنوان شاخص هشداردهنده آلودگی عمل کند. به منظور سنجش پاک بودن آب از سموم خطرناک (مانند سموم آلی و معدنی مرتبط با آلودگی‌های زیست‌محیطی یا اقدامات خرابکارانه)، باید به‌دقت برای شرایط زیستی، تجهیزات، چهارچوب‌های اجرایی و تحلیل داده‌ها برنامه‌ریزی انجام گیرد.

این دستورالعمل با تمرکز بر پایش آنلاین و شرایط بحران مانند پایش سریع آب در مناطق مشکوک به آلودگی عمده یا تصادفی تنظیم شده و به شناسایی سمومی مانند سموم زیستی (سم بوتولینوم، سارین، ریسین، سیانید)، فلزات سنگین (آرسنیک، جیوه، سرب) و آفت‌کش‌ها (مالاتیون، دیازینون) توجه دارد.

¹ Zebrafish, *Danio rerio*

² *Daphnia magna*

۲- هدف

این دستورالعمل، چارچوبی عملی و علمی برای راه اندازی سامانه پایش آلودگی آب با استفاده از سنسور زیستی مبتنی بر ماهی زبرا در پایش پیوسته کیفیت آب در شرایط بحرانی ارائه می‌دهد. هدف این دستورالعمل ایجاد روش استاندارد و قابل اطمینان برای ارزیابی اولیه و بلادرنگ آلودگی آب در شرایط بحرانی از طریق پایش تغییرات رفتاری و زنده‌مانی ماهی‌ها به‌عنوان شاخصی کیفی از سلامت محیط آبی است. در این روش، زنده ماندن و رفتار طبیعی ماهی‌ها نشانگر شرایط کیفی نسبتاً مناسب آب بوده و مرگ و میر یا بروز رفتارهای غیرطبیعی می‌تواند به‌عنوان هشدار اولیه آلودگی تلقی شود. لازم به تأکید است که این سامانه صرفاً به‌عنوان ابزار پایش و هشدار سریع به کار می‌رود و نمی‌تواند جایگزین سایر روش‌های مرجع و استاندارد شیمیایی یا میکروبی در شناسایی و اندازه‌گیری دقیق آلاینده‌ها گردد.

۳- اصطلاحات و تعاریف

سازگاری^۳

عادت دادن موجودات تحت آزمایش به شرایط محیطی مختلف مانند دما، نور و کیفیت آب.

سنسور زیستی با جریان پیوسته^۴

یک سامانه پایش زیستی برای تشخیص سریع آلودگی‌های شیمیایی آب با استفاده از رفتار، پاسخ و یا مرگ و میر ماهی زبرا در یک جریان پیوسته آب.

شرایط محیطی^۵

مجموعه‌ای از ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی آب که باید در محدوده‌ای مشخص و پایدار حفظ شوند تا عملکرد طبیعی موجود زنده (ماهی زبرا) در سیستم تضمین و هر گونه تغییر رفتاری یا مرگ و میر ماهی‌ها قابل انتصاب به حضور آلاینده باشد.

۴- پایش آلودگی آب با استفاده از سنسور زیستی ماهی زبرا

۴-۱- ماهی زبرا

³ Acclimate

⁴ Flow-through Biosensor

⁵ Environmental Conditions

ماهی زبرا یکی از گونه‌های کوچک ماهی آب شیرین از خانواده کپورماهیان و بومی جنوب آسیا است. این ماهی از سازگاری بالایی در مقابل تغییرات عوامل محیطی برخوردار بوده و به همین دلیل به عنوان یک گونه محبوب پرورشی در سطح جهان شناخته می‌شود. این ماهی‌ها از نظر ظاهری دارای ۵ تا ۷ نوار افقی دو طرف بدن، ۳ باله جفت نشده و ۲ باله جفت هستند. نمونه ای از ماهی زبرا در شکل ۱ نمایش داده شده است.



شکل ۱: ماهی زبرا

در طبیعت، ماهی‌های زبرا عمدتاً از طیف گسترده‌ای از زئوپلانکتون‌ها و حشرات (اعم از آبی و خشکی‌زی) و تا حد کمتری از جلبک‌ها و سایر مواد آلی تغذیه می‌کنند. این ماهی به دلیل ویژگی‌هایی مانند اندازه کوچک، چرخه تولیدمثل سریع و شباهت‌های ژنتیکی با انسان، به‌طور گسترده‌ای در تحقیقات زیست‌پزشکی، ژنتیک، داروشناسی و علوم اعصاب استفاده می‌شود. در جدول ۱ برخی از ویژگی‌ها و شرایط زیستی ماهی زبرا به صورت خلاصه ارائه شده است.

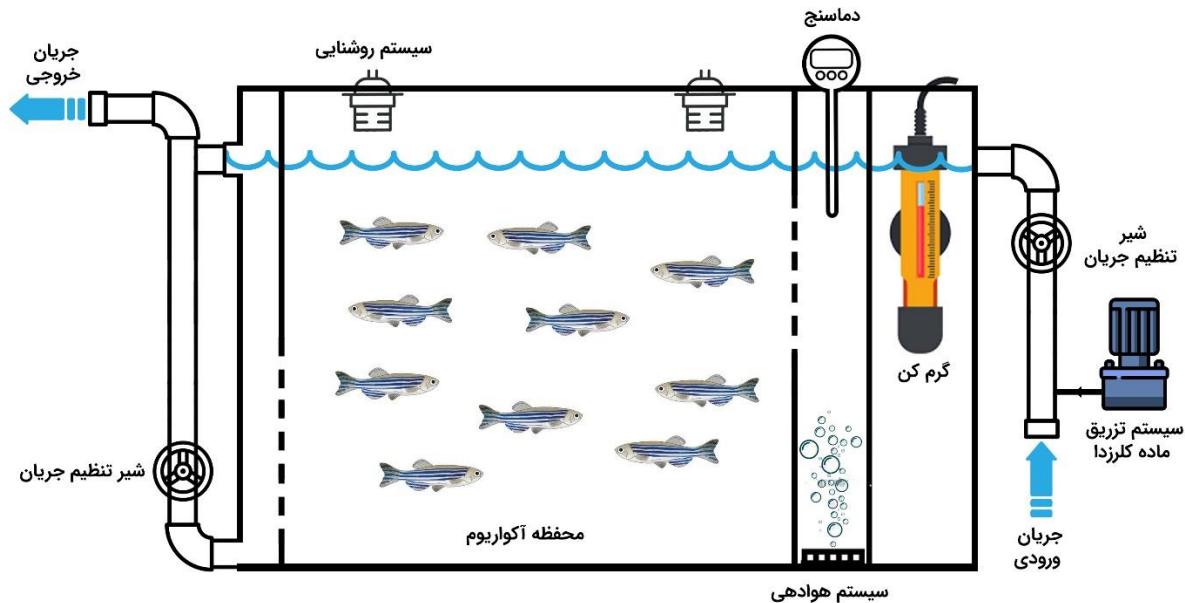
جدول ۱: ویژگی‌ها و شرایط زیستی ماهی زبرا

مشخصه	مقدار
طول بدن در ماهی بالغ	۲.۵ تا ۵ سانتی متر
طول عمر	۲ تا ۵ سال (در شرایط آزمایشگاهی)
دمای بهینه آب	۲۴ تا ۲۸ درجه سانتی گراد
محدوده دمایی قابل تحمل	۱۶ تا ۳۸ درجه سانتی گراد
pH بهینه آب	۶.۸ تا ۷.۵
محدوده pH قابل تحمل	۵.۹ تا ۸.۵
محدوده شوری (TDS)	تا ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر
غلظت اکسیژن محلول توصیه شده در آب	حداقل ۴ میلی گرم در لیتر

۴-۲- مراحل و شرایط اجرای طرح پایش با ماهی زبرا

نکته: عدم رعایت هر یک از شرایط مندرج در این بخش حتی در آب سالم و بهداشتی نیز ممکن است سبب مرگ و تغییر رفتار ماهی و در نتیجه خطا در تفسیر و تحلیل نتایج شود. لذا اکیداً توصیه می‌شود شرایط محیطی مناسب برای ماهی مطابق با موارد اعلامی رعایت گردد.

برای راه اندازی یک سنسور زیستی مبتنی بر ماهی زبرا باید به ابعاد مختلف موضوع از قبیل شرایط آکواریوم، وضعیت جریان، تعداد و شرایط ماهی و برخی دیگر از پارامترهای توجه شود. شماتیکی از یک سنسور زیستی مبتنی بر ماهی زبرا در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲: طرح شماتیک و مشخصات کلی یک سنسور زیستی مبتنی بر ماهی زبرا

با توجه به شکل فوق، در ادامه این بخش به مهم‌ترین الزامات مربوط به ایجاد سنسور زیستی و جزئیات مربوطه پرداخته شده است.

۴-۲-۱- ابعاد آکواریوم

برای استفاده از ماهی زبرا به عنوان سنسور زیستی در پایش آلودگی آب، ابعاد آکواریوم یا مخازن مورد استفاده به عوامل متعددی از جمله تعداد ماهی‌ها، نوع آزمایش و شرایط عملیاتی بستگی دارد. انتخاب دقیق حجم، ابعاد، جنس و شرایط هیدرولیکی آکواریوم نقش مهمی در عملکرد مناسب سنسور زیستی دارد.

ابعاد آکواریوم از جمله مهم‌ترین پارامترهای اثرگذار بر عملکرد یک سنسور زیستی به شمار می‌رود. در سنسورهای زیستی تجاری موجود، حجم آکواریوم بین ۹ تا ۲۵ لیتر در نظر گرفته شده است. جهت یکسان سازی شرایط لازم است ابعاد آکواریوم $27 \times 27 \times 20$ سانتی متر در نظر گرفته شود. معمولاً عرض آکواریوم در مقایسه با طول و ارتفاع آن کوچکتر در نظر گرفته می‌شود. در این حالت به دلیل باریک‌تر شدن مجرای عبور جریان در آکواریوم، شرایط جریان و اختلاط آب ورودی به شکل بهینه انجام می‌شود و در صورت بروز آلودگی، امکان شناسایی آن در مدت زمان کوتاه‌تری فراهم می‌گردد.

۴-۲-۲- محل نصب سامانه

جانمایی سنسورهای زیستی باید بر اساس ارزیابی ریسک سامانه تأمین و انتقال آب انجام شود. سنسورهای زیستی را می‌توان در ورودی یا خروجی تصفیه‌خانه‌های آب، خروجی مخازن آب بین راهی و یا خروجی مخازن ذخیره راهبردی نصب کرد. در صورت ایجاد

سامانه در ورودی تصفیه‌خانه آب، کنترل شرایط محیطی خصوصاً کدورت آب ورودی به آکواریوم، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بدیهی است پارامتر کدورت در زمان جانمایی سامانه در خروجی تصفیه‌خانه از اهمیت کمتری برخوردار بوده و در این حالت حذف کلر آزاد باقی‌مانده باید مورد توجه قرار گیرد.

۴-۲-۳- جنس آکواریوم

آکواریوم باید از مواد غیرسمی و بی اثر مانند شیشه، اکریلیک یا کیفیت بالا (پلکسی گلاس) و یا پلی سولفون ساخته شود تا مشاهده رفتار ماهی‌ها به آسانی صورت پذیرد.

۴-۲-۴- نرخ جریان (دبی)

نرخ جریان یکی از مهم ترین مؤلفه های عملکردی سنسورهای زیستی پیوسته است که نقش مهمی در دستیابی به نتایج قابل قبول دارد. با توجه به این که سنسورهای زیستی مورد بحث برای نظارت مداوم و بلادرنگ بر کیفیت آب طراحی شده‌اند، نرخ جریان آب انتخاب شده باید تضمین کند که نمونه آبی که ماهی‌ها در معرض آن قرار می‌گیرند، همان آب در حال پایش (مثلاً آب رودخانه، چاه یا ورودی تصفیه‌خانه) است. در صورتی که نرخ جریان کمتر از حد نرمال باشد، زمان ماند آب در آکواریوم افزایش یافته و شناسایی رویداد با تأخیر انجام خواهد شد. در مقابل، چنانچه جریان آب ورودی به آکواریوم بیش از حد متعارف در نظر گرفته شود، علاوه بر اثرگذاری منفی بر رفتار ماهی‌ها، پایداری شرایط محیطی (مانند دما و غلظت اکسیژن محلول) را نیز تحت تأثیر قرار خواهد داد. بر این اساس، دبی جریان ورودی به آکواریوم باید به گونه ای تنظیم شود که زمان ماند متوسط آن بین ۱۰ تا ۳۰ دقیقه باشد. به عبارت دیگر، آب موجود در آکواریوم باید در هر ساعت ۲ تا ۶ بار از طریق جریان ورودی جایگزین شود. بر این اساس، در صورتی که حجم آکواریوم ۲۵ لیتر در نظر گرفته شود دبی ورودی باید بین حدود ۵۰ تا ۱۵۰ لیتر در ساعت تنظیم شود. حفظ پایداری و یکنواختی جریان آب ورودی به آکواریوم به منظور جلوگیری از ایجاد استرس در ماهی‌ها و نیز جلوگیری از بروز اختلال در فرآیند هوادهی و تنظیم درجه حرارت حائز اهمیت است. برای این منظور می‌توان از یک شیر تنظیم جریان در مسیر ورود آب به آکواریوم استفاده کرد.

۴-۲-۵- شرایط جریان آب

برای تشخیص رویدادهای مرتبط با تغییر ناگهانی کیفیت آب باید از سنسورهای زیستی با جریان پیوسته استفاده شود. در این حالت جریان آب به طور دائمی از یک طرف آکواریوم وارد شده و از طرف دیگر آن خارج می‌شود. برای انتقال آب به آکواریوم می‌توان از فشار آب موجود در خط انتقال و یا یک پمپ مجزا با ظرفیت مورد نظر استفاده کرد. محل ورود و خروج آب از آکواریوم باید به گونه‌ای انتخاب شود که از ایجاد جریان میانبر در آکواریوم جلوگیری شود. به عبارت دیگر، آب ورودی باید در سریع ترین زمان ممکن با آب موجود در آکواریوم مخلوط و یا جایگزین آن شود و در صورت وجود آلودگی، ماهی‌های موجود در آکواریوم را به سرعت تحت تأثیر قرار دهد. ورود آب از بالا و خروج آن از پایین آکواریوم یکی از راه های تأمین اختلاط بهینه در آکواریوم است که در دستگاه های تجاری نیز مورد توجه قرار می‌گیرد. به منظور جلوگیری از ایجاد جریان میان بر، باید از قرار دادن محل ورود و خروج جریان در

یک تراز یکسان خودداری شود. در برخی طراحی‌ها، برای توزیع یکنواخت‌تر جریان و جلوگیری از خروج ماهی‌ها از آکواریوم، از صفحات مشبک یا سوراخ دار استفاده می‌شود.

۴-۲-۶- لوله‌کشی

لوله‌های ورودی باید از مواد غیررسمی مانند PVC یا سیلیکون مقاوم در برابر خوردگی ساخته شوند تا از آلودگی ثانویه آب و تأثیرگذاری آن بر ماهی‌ها جلوگیری شود. طول لوله انتقال آب باید حتی الامکان کوتاه در نظر گرفته شود تا از تشکیل بیوفیلم بر روی آن و تغییر کیفیت آب جلوگیری به عمل آید.

۴-۲-۷- کنترل کدورت و کلر باقی‌مانده

برای استفاده از ماهی زبرا به‌عنوان سنسور زیستی در پایش آلودگی آب با تمرکز بر مشاهده بصری تغییرات حالت شنا و مرگ‌ومیر، کیفیت آب ورودی به آکواریوم باید به‌دقت کنترل شود تا از تأثیرات غیرمرتبط با سموم هدف جلوگیری شود. کنترل این پارامترها برای اطمینان از سلامت ماهی‌ها و دقت نتایج پایش حیاتی هستند.

ماهی زبرا نسبت به کلر آزاد بسیار حساس است. وجود کلر باقی‌مانده می‌تواند به غشاهای آبشش و پوست ماهی آسیب رسانده و باعث استرس یا مرگ آن شود. در این حالت ممکن است مرگ ماهی‌ها اشتباهاً به وجود آلودگی در آب ارتباط داده شود. به همین دلیل آب ورودی به آکواریوم باید حتماً عاری از کلر باقی‌مانده باشد. در صورتی که آب مورد پایش دارای کلر باقی‌مانده است باید قبل از ورود آن به آکواریوم نسبت به حذف آن اقدام شود. برای حذف کلر باقی‌مانده می‌توان از سدیم تیوسولفات استفاده کرد. برای این منظور می‌توان با استفاده از یک دوزینگ پمپ با دبی مشخص (مثلاً یک لیتر در ساعت)، سدیم تیوسولفات را به جریان آب ورودی به آکواریوم تزریق کرد. به طور تقریبی در pH معادل ۷، برای حذف هر میلی‌گرم کلر باقی‌مانده، باید ۱.۹ میلی‌گرم سدیم تیوسولفات به آب اضافه شود. استفاده از سایر ترکیبات حذف‌کننده کلر نظیر سدیم متابی‌سولفیت (SMBS) به دلیل کاهش سطح اکسیژن آب توصیه نمی‌شود. استفاده از فیلتر کربن فعال نیز به دلیل احتمال اثرگذاری بر کیفیت آب ورودی و حذف آلودگی‌های هدف قابل قبول نیست.

وجود کدورت بالا در آب می‌تواند با ایجاد استرس در ماهی‌ها، فرآیند تنفس آن‌ها را مختل کند، یا مشاهده بصری تغییرات رفتاری را دشوار سازد. برای عملکرد مناسب سنسور زیستی مبتنی بر ماهی زبرا کدورت آب باید همواره کمتر از ۵۰ NTU باشد. بدیهی است هر چه میزان کدورت آب پایین‌تر باشد، طول عمر و فعالیت ماهی‌ها بهتر بوده و بالطبع عملکرد سنسور زیستی با خطای کمتری همراه خواهد بود. در کدورت‌های بسیار بالا می‌توان از فیلترهای با اندازه منافذ کمتر از ۵۰ میکرون استفاده کرد.

۴-۲-۸- سایر شرایط محیطی

درجه حرارت: دمای بهینه برای فعالیت ماهی‌های زبرا معمولاً بین ۲۴ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته می‌شود. با این وجود، این ماهی‌ها از تاب آوری بالایی در مقابل تغییرات درجه حرارت برخوردار بوده و می‌توانند در محدوده دمایی ۱۶ تا ۳۸ درجه نیز به فعالیت خود ادامه دهند. با این وجود، تغییرات دما می‌تواند رفتار و واکنش‌های ماهی را تحت تأثیر قرار داده و باعث ایجاد خطا یا

تشخیص ناصحیح در ارزیابی کیفیت آب شود. به همین دلیل، توصیه می شود تمهیدات لازم برای تنظیم دمای آب ورودی از طریق تعبیه گرم کن مجهز به سنسور دما و قطع کن خودکار در ورودی آکواریوم مد نظر قرار گیرد.

pH: pH بهینه برای ماهی های زبرا در محدوده ۶.۸ تا ۷.۵ قرار دارد. با این وجود ماهی های زبرا در pH های کمتر از ۸.۵ و بیشتر از ۵.۹ نیز سازگار هستند. از این رو، با توجه به این که pH آب نیز معمولاً در همین محدوده قرار داشته و فاقد تغییرات شدید است، نیازی به تنظیم آن وجود ندارد.

اکسیژن محلول: اکسیژن محلول یکی از مهم ترین پارامترهای مؤثر بر عملکرد موجودات آبی است. طبق مطالعات موجود، برای حفظ سلامتی ماهی های زبرا غلظت اکسیژن محلول در آب ورودی به آکواریوم باید بیش از ۴ میلی گرم در لیتر باشد. برای تأمین این سطح از اکسیژن می توان از یک سیستم هوادهی دیفیوژی استفاده کرد. نصب یک سنگ هوای متصل به یک هواده در ورودی آکواریوم می تواند شرایط مطلوب را از نظر اکسیژن محلول برای ماهی ها فراهم کند.

سختی آب: سختی آب می تواند بر تنظیم فشار اسمزی و سلامت موجودات آبی تأثیر بگذارد. سختی کل توصیه شده برای ماهی زبرا بین ۴۰ تا ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر برحسب کربنات کلسیم و مقدار ایده آل آن معادل ۱۸۰ میلی گرم بر لیتر برحسب کربنات کلسیم می باشد. با این وجود، سازگاری این ماهی در برابر تغییرات کیفیت آب مانند سختی قابل ملاحظه بوده و می تواند در آب های با سختی بیشتر نیز به فعالیت ادامه دهد.

کل جامدات محلول (TDS): مقدار توصیه شده برای کل جامدات محلول موجود در آب برای زیست مناسب ماهی زبرا کمتر از ۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر است. با توجه به این که میزان جامدات محلول در اغلب منابع آب شرب کمتر از این مقدار است، می توان بدون نگرانی از اثرگذاری شوری، از این ماهی در ارزیابی کیفیت آب استفاده کرد.

نور: یکی دیگر از پارامترهای مؤثر بر رفتار ماهی ها چرخه نور- تاریکی است. در واقع هر چه شرایط آکواریوم به وضعیت زیستگاه طبیعی ماهی ها شبیه تر باشد، واکنش آن ها در برابر تغییر سایر پارامترها، با دقت بیشتری قابل ارزیابی خواهد بود. طبق توصیه مراجع معتبر، چرخه نور- تاریکی بهینه برای ماهی های زبرا شامل ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی است. البته در مطالعات مختلف علمی از چرخه های متفاوت نور- تاریکی نیز استفاده شده است و تغییر این چرخه در کوتاه مدت ممکن است اثر معنی داری بر عملکرد ماهی ها نداشته باشد.

۴-۲-۹- کنترل شرایط محیطی

به منظور عدم ایجاد اختلال در فرآیند تشخیص آلودگی و حصول اطمینان از ثابت بودن شرایط محیطی، کنترل مستمر این شرایط حائز اهمیت است. در صورتی که سنسور زیستی در محل تصفیه خانه آب نصب شده باشد، می توان برای پایش برخی از پارامترها از سامانه های سنجش لحظه ای موجود استفاده کرد. در غیر این صورت، پیشنهاد می گردد شرایط محیطی آکواریوم طبق تواتر ارائه شده در جدول ۲ پایش شود. لازم به توضیح است که برای اندازه گیری دما می توان از دماسنج های نواری و یا برجسیبی مخصوص آکواریوم و برای اندازه گیری دبی نیز از جریان سنج های کوچک استفاده کرد.

جدول ۲: تواتر پایش پارامترهای مرتبط با شرایط محیطی آکواریوم

عامل محیطی	تواتر پایش
دما	مستمر
pH	روزانه
اکسیژن محلول	۳ بار در روز
کدورت	۳ بار در روز
کلر باقی مانده	۶ بار در روز
دبی	روزانه

۴-۲-۱۰- تعداد، اندازه و گونه ماهی‌ها

انتخاب ماهی از مهم ترین عواملی است که می تواند دقت و سرعت واکنش سنسور زیستی را تحت تأثیر قرار دهد. برای دستیابی به نتایج قابل اعتماد باید حداقل از ۱۰ تا حداکثر ۲۰ ماهی زبرا با ابعاد (طول) بین ۲ تا ۴ سانتی متر استفاده شود. ماهی‌ها حتماً باید از یک گروه جمعیتی ثابت انتخاب شوند تا از نظر سن، شرایط محیطی و سایر ویژگی‌های رشدی دارای بیشترین تشابه باشند. ماهی‌ها باید در محیطی عاری از آلودگی پرورش یافته باشند تا حساسیت آن‌ها در برابر سموم تحت تأثیر قرار نگیرد. ماهی‌های آکواریوم باید پس از گذشت یک دوره ۳۰ روزه با جمعیت جدیدی از ماهی‌ها جایگزین شوند. لازم به ذکر است ویژگی‌های دقیق ژنتیکی ماهی زبرا و مرکز تهیه آن متعاقباً اعلام خواهد شد.

۴-۲-۱۱- سازگاری ماهی‌ها با محیط

گاهی اوقات ماهی‌ها در طول انتقال متراکم و تحت استرس قرار می‌گیرند و در نتیجه حساسیت آن‌ها نسبت به شرایط محیطی افزایش می‌یابد. ماهی‌های انتخاب شده باید حداقل ۲۴ تا ۴۸ ساعت در معرض آب آکواریوم قرار بگیرند تا با شرایط محیطی سازگار شوند. در صورت مرگ بیش از ۱۰ درصد از ماهی‌ها در طول ۴۸ ساعت اولیه، نباید از آنها استفاده نمود. بدیهی است مشاهده هر گونه رفتار غیرعادی و یا مرگ و میر ماهی‌ها در طی این مدت نمی‌تواند نشانه‌ای قطعی از آلودگی آب باشد. به عبارت دیگر، حتماً رفتار و واکنش ماهی‌ها باید برای مدت زمان مشخصی پس از قرار گرفتن در محیط آکواریوم مورد بررسی قرار گیرد و نوع فعالیت آن‌ها به عنوان مبنای شرایط اولیه در نظر گرفته شود. در صورتی که فعالیت ماهی‌ها پس از ورود به آکواریوم غیرنرمال باشد (بی‌حالی، شنا به صورت کج، چرخشی، تشنج، یا مرگ) باید نسبت به کنترل مجدد شرایط محیطی از قبیل وجود کلر آزاد باقی مانده و یا میزان اکسیژن محلول اقدام شود.

۴-۲-۱۲- تغذیه ماهی‌ها

برای حفظ سلامتی ماهی‌ها، باید حداقل روزی ۲ تا ۳ بار آن‌ها را با غذای مناسب تغذیه کرد. برای این منظور می‌توان از ترکیبات غذایی موجود در بازار که به شکل پولکی یا گرانولی فروخته می‌شوند استفاده کرد. رژیم غذایی ماهی زبرا تا حدود زیادی به کپورماهیان همه‌چیزخوار شباهت دارد.

۴-۲-۱۳- تمیز کردن ظروف و تجهیزات

تمیز کردن آکواریوم در پایش کیفیت آب با استفاده از ماهی زبرا به عنوان سنسور زیستی برای جلوگیری از تجمع آلاینده‌ها، رشد بیوفیلم و بروز بیماری‌های میکروبی (مانند عفونت‌های قارچی یا باکتریایی) ضروری است. این فرآیند همچنین از تداخل عوامل محیطی با نتایج پایش (مانند تغییرات رفتاری یا مرگ‌ومیر غیرمرتبط با سموم هدف) جلوگیری می‌کند. برای تمیز کردن مخزن، پس از خارج کردن ماهی‌ها، آب مخزن را به طور کامل تخلیه کنید. برای انتقال ماهی‌ها از تور نرم با مش ۱۰۰-۲۰۰ میکرومتر استفاده کنید تا آسیب به آن‌ها وارد نشود. رسوبات، باقی‌مانده‌های غذا و مدفوع ماهی‌ها را از آکواریوم خارج کرده و سطوح داخلی آن را با دقت شست‌وشو دهید. برای پاک کردن دیواره‌های آکواریوم می‌توانید از اسفنج نرم یا برس غیرساینده استفاده کنید. مخزن را با آب پر کرده و سیستم‌های هوادهی، گرم کن و حذف کلر را راه‌اندازی کنید. پس از اطمینان از مساعد بودن شرایط محیطی (دما، اکسیژن محلول و عدم وجود کلر باقی‌مانده) ماهی‌ها را به آکواریوم اضافه کنید. پیشنهاد می‌شود عملیات شست‌وشو و نظافت آکواریوم به صورت هفتگی انجام شود. در صورت نصب سنسور زیستی در خروجی تصفیه‌خانه و یا مخزن آب پاک، با توجه به کیفیت مطلوب تر آب ورودی، می‌توان فواصل شست‌وشو و نظافت را افزایش داد.

۴-۲-۱۳- مدیریت پساب و پسماند

با توجه به وجود جریان پیوسته در سنسورهای زیستی مبتنی بر فعالیت ماهی‌ها، مدیریت جریان خروجی این سامانه‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در صورت نسب سامانه در ورودی تصفیه‌خانه می‌توان آب خروجی سنسور زیستی را با جریان آب ورودی تصفیه‌خانه مخلوط کرد. با این وجود، در صورت نصب سامانه در خروجی تصفیه‌خانه آب و با مخازن آب پاک، اختلاط خروجی آن با آب تصفیه شده مجاز نیست اما می‌توان جریان مورد نظر را به ابتدای فرآیند تصفیه منتقل و یا از آن برای آبیاری فضای سبز استفاده کرد. در صورت انجام آزمون‌های مربوط به اثر سمیت و یا افزودن هر نوع ماده ای به آب ورودی آکواریوم، اختلاط جریان خروجی سامانه با آب تصفیه شده و یا خروجی مخزن آب پاک به هیچ عنوان مجاز نیست. پساب و پسماندهای تولید شده در طی عملیات شست‌وشوی آکواریوم و حذف بیوفیلم باید با رعایت ملاحظات قانونی به صورت کاملاً بهداشتی دفع شوند.

۴-۳- شاخص‌های پایش

عوامل و مشخصه‌هایی از رفتار ماهی‌ها که به کمک آن می‌توان وقوع آلودگی آب را تشخیص داد شاخص‌های پایش نامیده می‌شوند. در سنسورهای زیستی پیشرفته از تجهیزات مختلفی برای ارزیابی وضعیت زیستی ماهی‌ها استفاده می‌شود. در این سامانه‌ها امکان تشخیص تغییرات رفتاری کوچکی اعم از شدت فعالیت، سرعت شنا و عمق شنا وجود دارد. بدیهی است در سنسورهای زیستی ارزان قیمت استفاده از این سامانه‌ها مقرون به صرفه نیست. به همین دلیل در سیستم‌های مورد بحث در این دستورالعمل، شاخص‌های اساسی نظیر کاهش یا افزایش شدید فعالیت ماهی‌ها، تجمع آن‌ها در سطح یا نزدیک کف مخزن به صورت غیرطبیعی، شنای کج، کاهش تحرک یا بی‌حالی قابل توجه (ماهی‌ها معمولاً فعال و پرتحرک هستند)، تغییر رنگ غیرعادی بدن یا باله‌ها (مثلاً کم‌رنگ شدن یا لکه‌های غیرطبیعی)، تنفس سریع یا غیرعادی (حرکت سریع آبشش‌ها که با چشم قابل تشخیص است)، تجمع ماهی‌ها در یک گوشه مخزن یا رفتارهای غیرعادی گروهی و از همه مهم تر مرگ‌ومیر

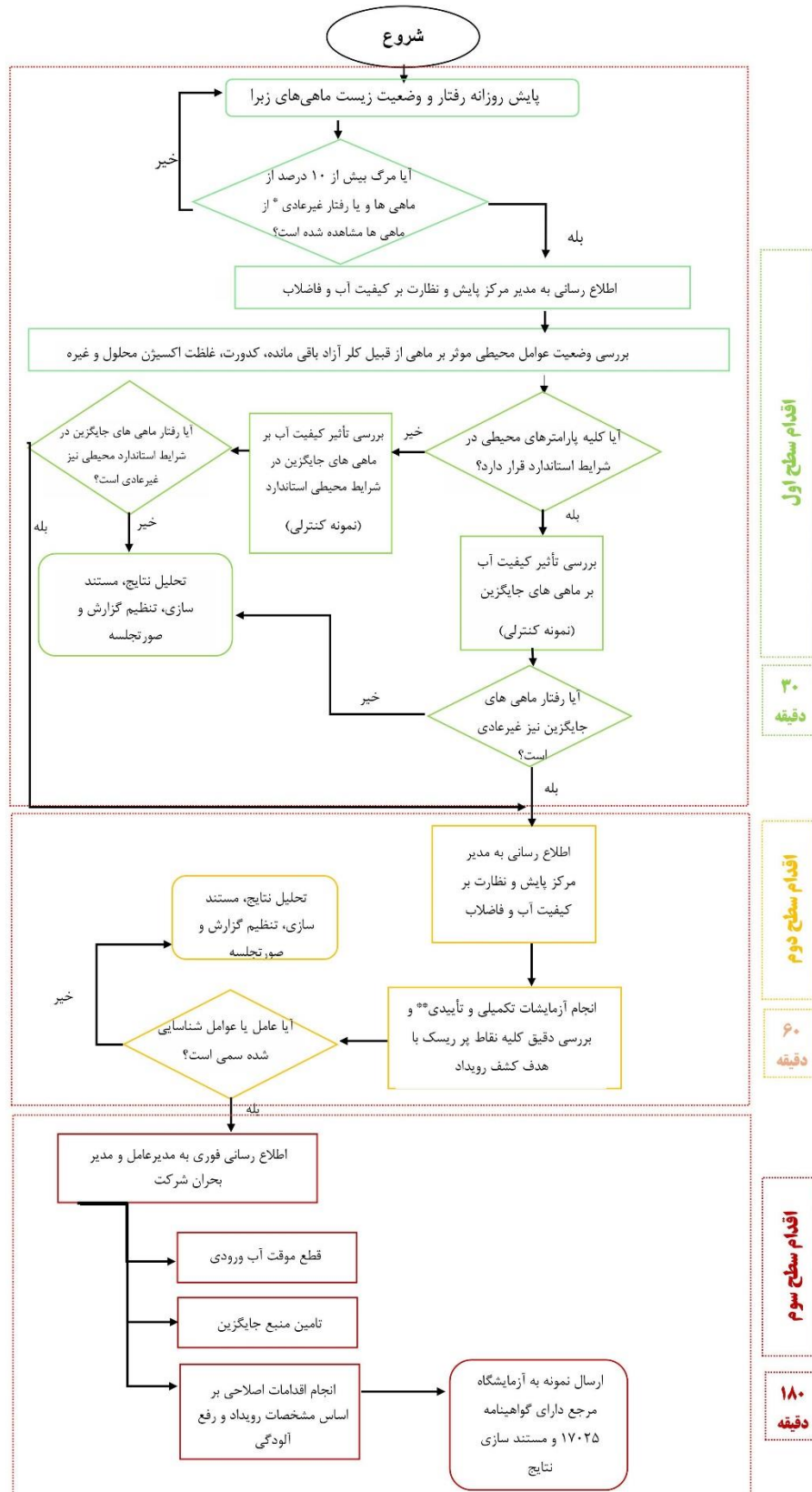
تعدادی از آن‌ها به عنوان حدود آستانه تشخیص ورود آلودگی به آب در نظر گرفته می‌شود. لازم به توضیح است که سموم حاد (مانند سارین، سیانید، سم بوتولینوم) باعث مرگ سریع، تشنج، یا بی‌حرکتی ماهی‌ها (در عرض ۱ تا ۶ ساعت)، و سموم مزمن (مانند فلزات سنگین، آفت‌کش‌ها) نیز منجر به کم‌حرکی و تغییر در الگوی شنای آن‌ها می‌شود. بنابراین مهم‌ترین شاخص پایش در سنسورهای زیستی مورد بحث، وقوع مرگ و میر در جمعیت ماهی‌ها است.

برای تشخیص بهتر و بررسی روند تغییرات رفتاری ماهی‌ها، استفاده از سیستم‌های تصویربرداری توصیه می‌شود. برای این منظور می‌توان با نصب یک دوربین فیلمبرداری با وضوح مناسب در فاصله‌ای مشخص از آکواریوم، نسبت به ضبط تصاویر و انتقال آن به اتاق کنترل اقدام کرد. برای بهبود کنترل عوامل محیطی می‌توان از کنترل‌کننده‌های ارزان قیمت نظیر بردهای Arduino و برای تحلیل تصاویر نیز از نرم افزار متن باز ImageJ استفاده کرد. بدیهی است در این حالت باید مشخصه‌های رفتاری ماهی‌ها در قالب متغیرهای قابل محاسبه تعریف شوند و تغییر معنی‌دار در هر یک از این مشخصه‌ها نشان‌دهنده تغییر در کیفیت آب خواهد بود.

۴-۴- نکات تکمیلی

هیچ یک از سنسورهای زیستی موجود قادر به تشخیص و شناسایی دقیق نوع آلودگی نیستند. در صورت بروز تغییر معنی‌دار در فعالیت ماهی‌ها و یا مرگ‌ومیر آن‌ها باید به سرعت اقدامات تکمیلی برای تشخیص قطعی وجود آلودگی صورت گیرد. انجام آزمایشات تکمیلی با استفاده از دستگاه‌های پیشرفته آزمایشگاهی، بازدید از آبگیر تصفیه‌خانه و نقاط آسیب‌پذیر و بررسی دقیق شواهد مرتبط با اقدامات خرابکارانه و بررسی مجدد واکنش جمعیت جدیدی از ماهی‌ها در مواجهه با آب از جمله این اقدامات تکمیلی به شمار می‌رود. باید به این نکته توجه کرد که تغییر رفتار یا مرگ‌ومیر ماهی‌ها ممکن است به دلایلی به جز آلودگی آب ارتباط داشته باشد، فلذا اظهار نظر قطعی باید پس از انجام اقدامات تکمیلی صورت پذیرد. در مقابل، زنده ماندن ماهی‌ها و عدم تغییر در شرایط زیستی و فعالیت آن‌ها می‌تواند تا حد قابل قبولی نشان‌دهنده ثبات کیفیت آب باشد. در ادامه جهت آگاهی و سهولت کار، فلودیگرام اقدامات مورد نیاز و جدول ثبت نتایج در پایش کیفیت آب بوسیله حسگر زیستی ماهی زبرا ارائه شده است.

فرآیند اقدام در سامانه های پایش زیستی (سامانه های بیوسنسور)



***رفتار غیر عادی ماهی شامل:**

- شنا در سطح آب یا نزدیک کف مخزن به صورت غیرطبیعی.
- کاهش تحرک یا بی حالی قابل توجه (ماهی ها معمولاً فعال و پرتحرک هستند).
- تغییر رنگ غیرعادی بدن یا باله ها (مثلاً کم رنگ شدن یا لکه های غیرطبیعی).
- تنفس سریع یا غیرعادی (حرکت سریع آبشش ها که با چشم قابل تشخیص است).
- تجمع ماهی ها در یک گوشه مخزن یا رفتارهای غیرعادی گروهی.
- اگر هر یک از این علائم در بیش از ۲۰-۳۰٪ ماهی ها مشاهده شود، باید مشکوک به آلودگی شد.

****** یکی از روش های سریع، اسکن UV-Visible از نمونه آب در محدوده ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر و مقایسه آن با اسکن آب در شرایط عادی و آب با کیفیت است. بسیاری از مواد آلی در محدوده طول موج فرابنفش پیک خواهند داد. بعضی از فلزات سنگین نیز در صورت داشتن غلظت بالا در محدوده طول موج مرئی ممکن است پیک ایجاد نمایند. استفاده از کیت های تشخیص سریع فلزات سنگین، استفاده از دستگاه های پرتابل مانند آنالایزر TOC در این شرایط کمک کننده و راه گشا خواهند بود و امکان نتیجه گیری، تصمیم گیری و اقدام سریع را فراهم می آورد. در کنار اقدامات سریع ذکر شده، ارسال نمونه جهت آنالیز دقیق با دستگاه های پیشرفته آزمایشگاهی همچون GC-MS و.... الزامی است.

نکته: زمان های ذکر شده در هر سطح از اقدام، نشان دهنده اهمیت اقدام سریع و به موقع در زمان وقوع حادثه است.

مرگ ۵۰ درصد از ماهی ها از سطح هشدار بالایی در خصوص آلودگی آب برخوردار است.

جدول شماره ۳- ثبت نتایج روزانه پایش آنلاین آب

برگه ثبت نتایج بیوسنسور پایش آبدر شرکت آب و فاضلاب استان.....					
نام و نام خانوادگی کارشناس مربوطه:					
روز:	تاریخ:			محل دقیق قرارگیری بیوسنسور:	
پارامترها:	پایش اول با ذکر دقیق ساعت	پایش دوم با ذکر دقیق ساعت	پایش سوم با ذکر دقیق ساعت	پایش چهارم با ذکر دقیق ساعت	پایش n ام با ذکر دقیق ساعت
اکسیژن محلول آب					
سختی آب					
دمای آب					
کدورت آب					
pH آب					
کلر باقیمانده					
دبی آب ورودی به آکواریوم					
تعداد ماهی داخل آکواریوم					
تعداد ماهی زنده					
تعداد ماهی مرده					

					رفتار ماهی (نرمال، شنای کج، تشنج، بی حالی، کم تحرکی و..)
--	--	--	--	--	---

۵- تعیین حدود سمیت

جهت تعیین اثر مواد سمی گوناگون بر ماهی زبرا و مشخص شدن واکنش این ماهی برابر سموم مختلف لازم است آزمایش های تعیین حدود سمیت مطابق با شرایط و مراحل ذیل در نظر گرفته شود. لازم به ذکر است یکی از اولویت انجام چنین تست هایی، سموم کشاورزی مورد استفاده متداول منطقه است.

۵-۱- گروه های آزمایشی

- گروه نمونه: ماهی های زبرا در آب حاوی غلظت شناخته شده ای از یک سم قرار گیرند تا پاسخ پایه مشخص شود.
- گروه کنترل منفی: ماهی ها در آب تصفیه شده (عاری از آلاینده) قرار می گیرند.

۵-۲- مدت زمان و تعداد تکرار آزمایش

برای سموم با اثر حاد (مانند سارین، سیانید، سم بوتولینوم)، پایش در ۱ تا ۶ ساعت و برای سموم با اثر مزمن (مانند فلزات سنگین، آفت کش ها) در ۲۴-۹۶ ساعت انجام شود. برای دستیابی به نتایج آماری قابل قبول هر آزمایش باید حداقل ۳ بار تکرار شود.

۵-۳- چهارچوب عملی تهیه داده های رفتاری ماهی زبرا در برابر غلظت های مختلف سموم

- ✓ همزمان ۱۰ ماهی را در آب کنترل و ۱۰ ماهی دیگر را در آب با غلظت سم مورد نظر قرار دهید.
- ✓ جهت تعیین غلظت سموم از استانداردها و مراجع معتبر علمی استفاده کنید. اگر محلول های اندازه گیری در یک حلال آلی تهیه می شوند از یک نمونه کنترل حامل استفاده کنید. حامل های قابل قبول شامل دی متیل فرمامید، اتانول، متانول، استون، دی متیل سولفوکسید و تری اتیلن گلیکول هستند. غلظت حامل ها را به ۰.۱ میلی لیتر در لیتر محلول آزمایش محدود کنید. کنترل های حامل نباید منجر به افزایش مرگ و میر شوند. در صورت مرگ بیش از ۱۰ ماهی در یک سیستم کنترل، آزمایش را تکرار کنید. برای تعیین غلظت های قطعی آزمایش محلول ها را با نسبت رقت ۱.۵ به ۲ بین غلظت های متوالی تهیه کنید.
- تهیه محلول استوک (مثلاً آرسنیک با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر).
- تست در غلظت های زیر حد مجاز (مثلاً ۰.۰۵ میلی گرم بر لیتر برای آرسنیک)، برابر حد مجاز (مثلاً ۰.۰۱ میلی گرم بر لیتر برای آرسنیک)، کمی بالاتر از حد مجاز برای شبیه سازی آلودگی متوسط (مثلاً ۰.۰۲ میلی گرم بر لیتر برای آرسنیک) و تست در غلظت نزدیک به LC₅₀ برای شبیه سازی آلودگی با سمیت حاد (مثلاً ۷ تا ۱۵ میلی گرم بر لیتر برای آرسنیک)

- نتایج پارامترهای میزان اکسیژن محلول، کدورت، دمای آب، pH، سختی، کلر باقی‌مانده، دبی جریان، تعداد ماهی زنده، رفتار ماهی، زمان وقوع رفتار غیرعادی و غلظت سم اولیه در هر دو مخزن را در فواصل زمانی ۳۰ دقیقه یادداشت کنید (جدول شماره ۴).
- در مخزن آب کنترل، در شرایط کنترل شده و محیطی مناسب طی مدت آزمایش انتظار رفتار غیرعادی وجود ندارد.
- در مخزن انجام آزمایش، طی مدت آزمایش بر اساس غلظت سم، انتظار رفتار غیرعادی و مرگ وجود دارد و لازم است کلیه مشاهدات و مقادیر به طور دقیق ثبت شود.
- پس از اتمام آزمایش، نمودار درصد مرگ و یا رفتار غیرعادی را در زمان‌های مختلف رسم نمایید.
- در صورت تشنج یا مرگ بیش از ۵۰ درصد از ماهی‌ها در ۱ تا ۶ ساعت اثر حاد و در صورت بی‌حالی یا مرگ در ۲۴ تا ۹۶ ساعت اثر مزمن برای غلظت سم مورد بررسی در نظر گرفته می‌شود.

دستورالعمل استفاده از سنسورهای زیستی (ماهی زبرا) برای پایش کیفیت آب در شرایط بحران

[illegible]

نکته: با مرگ ۵۰ درصد ماهی ها در هر زمانی آزمایش به اتمام رسیده و لازم است با غلظت پایین تری آزمایش انجام گیرد.

۴- مراجع

- Allen, H. J., Panguluri, S., Muhammad, N., Macke, D. A., & Meiners, G. (2007, November). Online Toxicity Monitors (OTM) for Distribution System Water Quality Monitoring. In WQTC Technology Conference, Charlotte, NC.
- Aleström, P., et al. (2016). Zebrafish: Housing and Husbandry Recommendations
- American Water Works Association. (2006). Water chlorination/chloramination practices and principles (Vol. 20). American Water Works Association.
- American Public Health Association (APHA), AWWA, WEF (2017). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd Edition.
- Barreiros, M. D. O., Barbosa, F. G., Dantas, D. D. O., Santos, D. D. M. L. D., Ribeiro, S., Santos, G. C. D. O., & Barros, A. K. (2021). Zebrafish automatic monitoring system for conditioning and behavioral analysis. Scientific Reports, 11(1), 9330.
- Hammer, H.S., 2020. Water quality for zebrafish culture. In The zebrafish in biomedical research (pp. 321-335). Academic Press.
- Harper, C., & Lawrence, C. (2016). The laboratory zebrafish. CRC Press.
- ISO 7346-3:1996 Water quality — Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] Part 3: Flow-through method
- Organisation for Economic Co-operation and Development, 1992. Test No. 203: Fish, acute toxicity test. OECD Publishing.
- Pasparakis, C., Lohroff, T., Biefel, F., Cocherell, D.E., Carson, E.W., Hung, T.C., Connon, R.E., Fangue, N.A. and Todgham, A.E., 2023. Effects of turbidity, temperature and predation cue on the stress response of juvenile delta smelt. Conservation Physiology, 11(1), p.coad036.
- U.S. Environmental Protection Agency (EPA) (2002). Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms. EPA-821-R-02-013.
- Weber, C.I. ed., 1991. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms (p. 197). Washington, DC: Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency.

پیوست اطلاعات تکمیلی

۱- اصطلاحات و تعاریف

سمیت حاد^۶

اثر کشنده یا سایر اثرات نسبتاً کوتاه مدت که معمولاً در عرض ۴ روز برای ماهی‌ها و بی مهرگان بزرگ و در عرض ۲ روز برای موجودات با طول عمر کوتاه‌تر رخ می‌دهد.

سمیت مزمن^۷

سمیت ناشی از محرکی است که برای مدت نسبتاً طولانی (اغلب یک دهم طول عمر یا بیشتر) ادامه می‌یابد یا باقی می‌ماند. یک اثر سمی مزمن را می‌توان علاوه بر کشندگی بر حسب کاهش رشد، کاهش تولید مثل و ... اندازه‌گیری کرد.

دوز^۸

مقدار ماده سمی که وارد بدن موجود زنده می‌شود.

سمیت^۹

پتانسیل یا ظرفیت سمیت یک ماده آزمایشی (عموماً یک سم یا مخلوطی از سموم) برای تأثیر نامطلوب بر موجودات زنده است. سمیت نتیجه دوز، غلظت و زمان مواجهه است که توسط متغیرهایی مانند دما، شکل شیمیایی و در دسترس بودن تغییر می‌کند.

کنترل^{۱۰}

نمونه ای که در مواجهه با تمام شرایط آزمایش به جز آلاینده مورد هدف قرار می‌گیرد.

آزمایش تعیین محدوده^{۱۱}

آزمایش اولیه ای است برای تعیین سمیت تقریبی یک محلول. طرح آزمایش در غلظت‌های متعدد، با فاصله زیاد، همراه با یک بار تکرار است و میزان مواجهه معمولاً ۸ تا ۲۴ ساعت در نظر گرفته می‌شود.

^۶ Acute toxicity

^۷ Chronic toxicity

^۸ Dose

^۹ Toxicity

^{۱۰} Control

^{۱۱} Range-finding test

آزمایش غربالگری^{۱۲}

آزمایش سمیت برای تعیین احتمال مشاهده تأثیر است که در یک غلظت مشخص همراه با تکرارهای متعدد، طی ۲۴ تا ۹۶ ساعت انجام می گیرد.

آزمایش قطعی^{۱۳}

آزمایش سمیت برای تعیین غلظتی که در آن یک نقطه پایانی خاص رخ می دهد. زمان مواجهه در این آزمایش ها طولانی تر از آزمایش های غربالگری یا تعیین محدوده است. این آزمایش در غلظت های متعدد در فواصل نزدیک تر و تکرارهای متعدد انجام می گیرد.

پاسخ^{۱۴}

اثر بیولوژیکی اندازه گیری شده متغیر مورد آزمایش است. در آزمایش های سمیت حاد پاسخ معمولاً مرگ یا بی حرکتی است. در آزمایش های مزمن پاسخ میتواند شامل کاهش رشد، رشد غیر طبیعی یا کاهش تولید مثل باشد.

LC₅₀ حدی^{۱۵}

غلظت سمی که در آن مقدار غلظت کشنده میانه (LC₅₀)، بعد از در معرض قرار گرفتن، طی مدت زمان طولانی به یک مقدار ثابت نزدیک می شود.

غلظت مؤثر^{۱۶}

غلظت سمی که تخمین زده می شود باعث ایجاد یک اثر مشخص در نسبت تعیین شده (P) از موجودات آزمایش شود. این اثر معمولاً غیر کشنده است برای مثال تغییر در میزان تنفس یا از دست دادن تعادل. همچنین زمان قرار گرفتن در معرض سم را مشخص می نماید. به عنوان مثال 96h- EC₅₀ برای از دست دادن تعادل غلظت مؤثر ۵۰٪ از موجودات آزمایش طی ۹۶ ساعت است.

زمان در معرض قرار گرفتن^{۱۷}

زمانی است که یک موجود آزمایش در معرض محلول آزمایش قرار می گیرد.

غلظت مهار (IC_p)^{۱۸}

غلظت سمی است که تخمین زده می شود باعث درصد مشخصی (P) از مهار یا اختلال در یک عملکرد بیولوژیکی کیفی شود. به عنوان مثال IC₂₅ غلظتی است که تخمین زده می شود رشد لارو ماهی را نسبت به گروه کنترل ۲۵ درصد کاهش دهد. این اصطلاح

¹² Screening test

¹³ Definitive test

¹⁴ Response

¹⁵ Asymptotic LC₅₀

¹⁶ Effective concentration (EC_p)

¹⁷ Exposure time

¹⁸ Inhibition concentration (IC_p)

را با هر آزمایش سم شناسی مانند تغییر در نرخ تنفس، تعداد فرزندان، کاهش تعداد سلول‌های جلبکی و غیره که اندازه گیری می‌شود می‌توان استفاده نمود.

غلظت کشنده (LCp)^{۱۹}

غلظت سمی که تخمین زده می‌شود باعث مرگ در نسبت مشخصی (P) از موجودات آزمایش است معمولاً به عنوان غلظت کشنده (LC₅₀) میانه (۵۰٪) تعریف می‌شود. برای مثال 96h- LC₅₀ غلظتی است که ۵۰٪ از موجودات در معرض قرار گرفته را در یک دوره مواجهه ۹۶ ساعته می‌کشد.

کمترین غلظت اثر مشاهده شده (LOEC)^{۲۰}

شامل کمترین غلظت سمی است که در آن مقادیر پاسخ اندازه‌گیری شده توسط آزمون‌های آماری به طور قابل توجهی با مقادیر گروه کنترل متفاوت است.

حد تحمل میانه (TLm)^{۲۱}

غلظت ماده آزمایشی است که در آن ۵۰٪ از موجودات آزمایش برای مدت زمان مواجهه مشخص زنده می‌مانند. این اصطلاح با LC₅₀ و EC₅₀ جایگزین شده است.

غلظت بدون اثر مشاهده شده (NOEC)^{۲۲}

بالاترین غلظت ماده سمی است که در آن مقادیر پاسخ اندازه‌گیری شده تفاوت معنی داری با مقادیر موجود در کنترل که توسط آزمایش‌های آماری تعیین شده اند ندارند.

جریان مداوم^{۲۳}

آزمایشی که طی انجام آن محلول به طور مداوم در محفظه‌های آزمایش جایگزین می‌شود.

جریان تمدیدی^{۲۴}

آزمایشی که در آن ارگانسیم‌ها در معرض محلول‌هایی با ترکیب یکسان قرار می‌گیرند که به صورت دوره‌ای (معمولاً با فواصل ۲۴ ساعته) در طول دوره آزمایش تعویض می‌شوند. این کار با انتقال ارگانسیم‌های آزمایش یا تعویض محلول آزمایش انجام می‌شود.

جریان استاتیک^{۲۵}

آزمایشی که در آن محلول‌ها و ارگانسیم‌ها در محفظه‌های آزمایش قرار می‌گیرند و در طول مدت آزمایش در آنجا باقی می‌مانند.

¹⁹ Lethal concentration (LCp)

²⁰ Lowest-observed-effect concentration (LOEC)

²¹ Median tolerance limit (TL_m)

²² No-observed-effect concentration (NOEC)

²³ Flow-through test

²⁴ Renewal test

²⁵ Static test

آزمایش‌های سمّیت یابی محدوده ای^{۲۶}

در پساب یا آبی با سمّیت ناشناخته، آزمایش‌های دامنه یابی کوتاه مدت (معمولاً ۲۴ یا ۴۸ ساعته) در مقیاس کوچک انجام می‌گیرد تا محدوده غلظت تقریبی مورد نظر در آزمایش‌های قطعی کوتاه مدت تعیین شود. برای پساب‌هایی با سمّیت کم یا دیر اثر ممکن است آزمایش‌های ۴۸ یا ۹۶ ساعته لازم باشد. ارگانسیم‌های مورد آزمایش لازم است در معرض طیف وسیعی از غلظت‌های ماده مورد آزمایش (معمولاً با نسبت لگاریتمی مثلاً ۰.۰۱، ۰.۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰٪ نمونه) قرار گیرند. انتخاب غلظت‌ها باید به گونه ای باشد که باعث مرگ همه، مرگ تعداد کمی و یا عدم مرگ ارگانسیم‌های مورد آزمایش شوند.

آزمایش‌های قطعی کوتاه مدت^{۲۷}

از آنجا که مرگ یک عارضه جانبی مهم می‌باشد که به راحتی قابل تشخیص است لذا رایج‌ترین آزمایش مورد استفاده برای سمّیت حاد مرگ و میر است. اگر انجام آزمایش سمّیت یابی محدوده ای قبل از آزمایش قطعی سمّیت حاد امکان پذیر نباشد، ممکن است استفاده از یک سری غلظت با ضریب رقت نیم (۱۰۰، ۲۵، ۱۲.۵، ۶.۲۵٪ یا ۰.۳، ۱۰۰، ۳۰، ۱۰، ۳٪) مناسب باشد. آزمایش‌های کوتاه مدت ممکن است در جریان استاتیک، تجدیدی و یا جریان مداوم انجام شوند. دوره‌های قرار گرفتن در معرض این آزمایش‌ها معمولاً ۴۸ یا ۹۶ ساعت است. آزمایش‌های استاتیک یا تجدیدی اغلب زمانی استفاده می‌شوند که ارگانسیم‌های مورد آزمایش فیتو یا زئوپلانکتون باشند زیرا این ارگانسیم‌ها به راحتی در آزمایش‌های جریان مداوم شسته می‌شوند. انجام آزمایش‌های استاتیک و تجدیدی به طور قابل توجهی ارزان‌تر از آزمایش‌های جریانی است. در صورت نیاز به اکسیژن، وجود یک ماده سمی ناپایدار یا فرار یا تغییرات روزانه در ترکیب پساب، میتوان محلول‌های آزمایش را روزانه تعویض نمود، از ظروف آزمایش با حداکثر نسبت سطح به حجم استفاده نمود و یا از تکنیک تعویض یا جریان عبوری استفاده کرد.

آزمایش‌های سمّیت میان مدت^{۲۸}

هیچ تمایز زمانی دقیقی در آزمایش‌های کوتاه مدت و میان مدت یا در آزمایش‌های میان مدت و بلند مدت وجود ندارد. معمولاً آزمایش‌هایی که ۱۰ روز یا کمتر طول می‌کشند کوتاه مدت در نظر گرفته می‌شوند در حالی که آزمایش‌های میان مدت ممکن است از ۱۱ تا ۹۰ روز طول بکشند. طول چرخه زندگی موجود زنده آزمایش به تعیین مدت زمان آزمایش‌های کوتاه مدت میان مدت یا بلند مدت برای آن گونه کمک می‌کند. آزمایش‌های میان مدت ممکن است استاتیک، تجدید شونده یا جریانی باشند اما آزمایش‌های جریانی در اکثر موقعیت‌ها توصیه می‌شوند.

آزمایش‌های کوتاه مدت برای تخمین سمّیت مزمن^{۲۹}

آزمایش‌هایی برای تخمین اثرات بلند مدت یک ماده سمی یا پساب پس از یک مواجهه نسبتاً کوتاه (۷ روزه است. نقاط پایانی این آزمایش‌ها که آزمایش‌های تخمین مزمن یا ارزیابی زیستی سریع نامیده می‌شوند شامل مرگ و میر، پتانسیل تولید مثلی و رشد هستند.

²⁶ Range-finding toxicity tests

²⁷ Short-term definitive tests:

²⁸ Intermediate-Term Toxicity Tests

²⁹ Short-Term Tests for Estimating Chronic Toxicity

۲- آشنایی با انواع ماهی زبرا

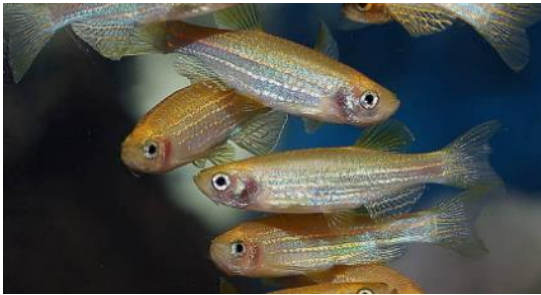
ماهی زبرا که با نام‌های ماهی گوره‌خری یا زبرا فیش نیز شناخته می‌شود، یکی از محبوب‌ترین ماهی‌های آکواریومی آب شیرین در ایران است. این ماهی به دلیل تنوع رنگی، نگهداری آسان و رفتار اجتماعی، در بین آکواریوم‌داران بسیار پرطرفدار است. بر اساس اطلاعات موجود، گونه‌ها و انواع ماهی زبرا که در ایران یافت می‌شوند، عمدتاً شامل انواع اصلاح‌شده ژنتیکی و طبیعی هستند که در زیر به آن‌ها اشاره شده است:



(ب)



(الف)



(د)



(ج)



(و)



(ه)



(ز)

شکل ۱: انواع ماهی‌های زبرا (الف: زبرا دانیو معمولی، ب: زبرا دانیو باله بلند، ج: زبرا دانیو آلبینو، د: زبرا دانیو طلایی، ه: زبرا دانیو پلنگی، و: زبرا فیش فلورسنت، ز: زبرا دانیو دم‌جایی)

زبرا دانیو معمولی:^{۳۰} رایج‌ترین نوع ماهی زبرا در آکواریوم‌های ایران بوده و دارای خطوط افقی آبی و نقره‌ای روی بدن است. اندازه آن معمولاً بین ۳ تا ۵ سانتی‌متر بوده و گاهی تا ۶ سانتی‌متر نیز رشد می‌کند. این ماهی صلح‌جو، پرتحرک و مناسب برای پرورش گروهی در آکواریوم‌های خانگی است.

زبرا دانیو باله بلند:^{۳۱} این ماهی دارای باله‌های بلندتر نسبت به نوع معمولی بوده و تنوع رنگی آن مشابه زبرا دانیو معمولی است. با این وجود، به دلیل باله‌های کشیده ظاهری ظریف‌تر دارد و به دلیل جذابیت بصری بیشتر از محبوبیت بالایی برخوردار است.

زبرا دانیو آلبینو:^{۳۲} این ماهی دارای بدنی کاملاً سفید یا بی‌رنگ با چشمان قرمز است. به دلیل ظاهر خاص و کمیاب بودن در طبیعت، در آکواریوم‌ها طرفدار دارد.

زبرا دانیو طلایی:^{۳۳} این ماهی دارای رنگ زرد کم‌رنگ تا طلایی در قسمت‌های پشتی و شکمی بوده و در ایران نیز یافت می‌شود.

زبرا دانیو پلنگی:^{۳۴} بر روی بدن این ماهی به جای خطوط راه‌راه معمولی، الگوی نقطه‌دار مشاهده می‌شود. این ماهی نسبت به زبرا معمولی دارای تنوع رنگی متفاوتی بوده و در بازار ایران نیز یافت می‌شود.

زبرا فیش فلورسنت:^{۳۵} گونه‌ای اصلاح‌شده ژنتیکی با رنگ‌های نئونی درخشان مانند قرمز، آبی، سبز، نارنجی، زرد و بنفش است که به دلیل رنگ‌های زنده و جذابیت بصری بسیار محبوب است.

زبرا دانیو دم‌حجایی:^{۳۶} این ماهی دارای باله‌های بلند و موج‌شبه به پرده است. زبرا دانیو دم‌حجایی نیز در ایران یافت می‌شود و به دلیل ظاهر زیبا در آکواریوم‌های زینتی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

³⁰ Common Zebra Danio

³¹ Long-Finned Zebra Danio

³² Albino Zebra Danio

³³ Golden Zebra Danio

³⁴ Leopard Danio

³⁵ GloFish

³⁶ Veil-Tailed Zebra Danio