

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΠΟΡΡΥΠΑΝΤΙΚΟΥ ΔΙΑΤΡΗΤΙΚΩΝ ΠΟΛΤΩΝ ΣΤΟ ΧΡΥΣΟΨΑΡΟ (*CARASSIUS AURATUS*)

Τουραπή Χρ.¹, Ηλιάδου Χρ.¹, Χριστοδούλου Μ.¹, Πετράκης Στ.¹, Μεγαλοφώνου Π.²

¹Διατμηματικό Μεταπτυχιακό Ωκεανογραφίας, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, dmoceanography@gmail.com

²Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, pmegalos@biol.uoa.gr

Περίληψη

Πραγματοποιήθηκαν στατικά πειράματα με σκοπό τη μελέτη οξείας τοξικότητας μέσω επιτολής (απορρυπαντικό - ένυδροι παράγοντες που μειώνουν την επιφανειακή τάση ενός υγρού, επιτρέποντας την καλύτερη ανάμειξη και διασπορά) για διατρητικούς σκοπούς, σε άτομα *Carassius auratus*. Εξετάστηκαν τα επίπεδα τοξικότητας σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, 0,5, 1, 2, 20, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 120, 160 ppm για 48 ώρες, υπό ελεγχόμενες συνθήκες, για τον προσδιορισμό της LC₅₀. Συγκεντρώσεις της τάξεως των 0,5 - 2 ppm δεν προκάλεσαν εμφανή τοξικά αποτελέσματα στα πειραματόζωα ενώ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ήταν τοξικές σε αυτά. Εκτός από την απευθείας παρατηρούμενη θνησιμότητα, καταγράφηκαν αλλαγές στη συμπεριφορά των πειραματόζωων.

Λέξεις κλειδιά: LC₅₀, Στατικά πειράματα, Θνησιμότητα, Τοξικότητα.

IMPACT OF DRILLING PULP DETERGENTS ON GOLDFISH (*CARASSIUS AURATUS*)

Tourapi Chr.¹, Iliadou Chr.¹, Christodoulou M.¹, Petrakis St.¹, Megalofonou P.²

¹Interdepartmental MSc of Oceanography, National and Kapodistrian University of Athens, dmoceanography@gmail.com

²Department of Zoology and Marine Biology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, pmegalos@biol.uoa.gr

Abstract

Static acute toxicity experiments with foaming surfactant (wetting agents that lower the surface tension of a liquid, allowing easier spreading) for water drilling purposes were demonstrated on individuals of *Carassius auratus*. Testing of different concentrations of the surfactant 0,5, 1, 2, 20, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 120, 160 ppm for 48 hours, under controlled conditions, showed the level of toxicity, in order to determine the LC₅₀. Concentrations that vary from 0,5 - 2 ppm, did not cause any obvious toxic effects, while higher concentrations resulted to be toxic for them. Apart from the direct observed mortality, behavioral changes were recorded.

Keywords: LC₅₀, Static experiments, Mortality, Toxicity.

1. Εισαγωγή

Η τοξικότητα των απορρυπαντικών έχει μελετηθεί από διάφορους ερευνητές. Σύμφωνα με τους Passino & Smith (1987), τα απορρυπαντικά στο περιβάλλον δημιουργούν υποβάθμιση της ποιότητας του νερού και προκαλούν θνησιμότητα ψαριών σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 15 ppm. Οι Mei *et al.* (2006) έδειξαν ότι τα απορρυπαντικά επιφέρουν διάφορες αρνητικές επιπτώσεις σε ανθρώπινα επιδερμικά κύτταρα (κυτταρικά τοιχώματα, λιποσύνθεση). Επίσης, οι Marcelino *et al.* (2006) μελέτησαν την επίδραση των απορρυπαντικών στη ρευστότητα των λιποσωμικών μεμβρανών παρατηρώντας ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, μεμβρανική ακαμψία. Σχετικά με τη χρόνια τοξικότητα των διατρητικών ρευστών, έχουν προηγηθεί μελέτες κυρίως σε ασπόνδυλα. Σημείο αναφοράς αποτελεί η έρευνα των Cranford *et al.* (1999) σε ενήλικα θαλάσσια χτένια (*Placocopten magellanicus*) τα οποία εκτέθηκαν σε προσομοιωμένες συνθήκες περιβάλλοντος, σε διάφορους τύπους και συγκεντρώσεις διατρητικών πολτών και των κύριων συστατικών τους. Κατά την έρευνά

τους, παρατήρησαν μείωση του ρυθμού αύξησης και αναπαραγωγής των ατόμων κατά την έκθεση τους σε διατηρητικούς πολτούς με βάση το νερό.

Τα απορρυπαντικά χρησιμοποιούνται ευρέως στην Ελλάδα ως αφρίζων παράγοντας σε σαπούνια οικιακής χρήσης (απορρυπαντικά, σαμπουάν, κ.ά.) και εμπεριέχονται σε διατηρητικούς πολτούς (απορριπτόμενο προϊόν γεωτρήσεων). Κατά τη διάνοιξη μιας υδρογεώτρησης απαιτούνται 2 – 4 λίτρα απορρυπαντικού ανά τόνο νερού. Ανάλογα με τον τύπο γεώτρησης, παράγονται διαφορετικοί τύποι διατηρητικών πολτών. Αυτοί είναι (α) με βάση το νερό, (β) με βάση το μπεντονίτη, (γ) με βάση το βαρίτη και (δ) με βάση το πετρέλαιο (Ahmadi, 2007). Βασικές ιδιότητες των διατηρητικών πολτών είναι το ειδικό βάρος (πυκνότητα) που συνήθως είναι μεταξύ 1,02 – 1,14 g/cm³ και το μεγάλο ιξώδες. Ένα από τα συστατικά των μέσων επιβολής είναι το 1,4-διοξένιο (C₄H₈O₂) το οποίο σε μεγάλες συγκεντρώσεις είναι τοξικό καθώς ερεθίζει τα μάτια και την αναπνευστική οδό, είναι ύποπτο για πρόκληση ζημιάς στο κεντρικό νευρικό σύστημα, το ήπαρ και τα νεφρά (International Chemical Safety Card, National Institute for Occupational Safety and Health, 2006) και ταξινομείται από το IARC (International Agency for Research on Cancer) ως καρκινογόνος ουσία [OPPT Chemical Fact Sheets 1,4-Dioxane (CAS No. 123-91-1), 2006] της ομάδας 2B. Γνωστή είναι η LC₅₀ σε ποντίκια από εισπνεόμενο διοξένιο, όπου ισούται με 18000 ppm (Interim Acute Exposure Guideline Levels, 1,4-dioxane, 2005).

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται τα πρώτα αποτελέσματα των πειραμάτων ερευνητικού προγράμματος με σκοπό την μελέτη της τοξικότητας των απορρυπαντικών που χρησιμοποιούνται στις γεωτρήσεις για άρδευση, ύδρευση, υδατοκαλλιέργειες κλπ., σε ψάρια. Ειδικότερα, στην εργασία αυτή μελετήθηκε η επίδραση ενός κοινού απορρυπαντικού του εμπορίου σε άτομα του είδους *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758), εξετάζοντας τα επίπεδα τοξικότητας σε διαφορετικές συγκεντρώσεις για τον προσδιορισμό της LC₅₀. Το *C. auratus* χρησιμοποιήθηκε διότι αποτελεί ένα είδος εύκολο για μελέτη και πειραματισμό στο πεδίο της τοξικότητας, καθώς έχει μικρό μέγεθος και κόστος, η συντήρησή του είναι εύκολη και υπάρχουν επαρκείς γνώσεις για τη βιολογία και την εκτροφή του. Ζει σε γλυκό νερό, με pH 6,0 – 8,0, κατά προτίμηση σε περιβάλλον με pH 7,5, με σκληρότητα από 5,0 – 19,0 dGH και σε εύρος θερμοκρασιών από 4 – 41°C (Froese & Pauly, 2008). Για τη διεξαγωγή του πειραματικού μέρους επιλέχθηκαν στατικά πειράματα έναντι πειραμάτων συνεχούς ροής λόγω της απλότητάς τους, του μειωμένου κόστους και των μικρότερων απαιτήσεών τους σε εξοπλισμό και όγκο ουσίας σε νερό (USEPA).

2. Υλικά και Μέθοδοι

Τα κύρια συστατικά του απορρυπαντικού που χρησιμοποιήθηκε είναι: α) Ανιονική ενεργή ύλη 26,5 %w/w, β) Θεϊκό νάτριο 0,34 %w/w, γ) Μη θειούχα ύλη 0,52 %w/w και δ) 1,4-Διοξένιο 32 ppm.

Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 130 πειραματόζωα του είδους *C. auratus*, μέσου βάρους 3,5 g και μέσου μεσουραϊού μήκους 63 mm, τα οποία παρέμειναν νηστικά για 24 ώρες πριν το πείραμα.

Πραγματοποιήθηκαν στατικά πειράματα (μη ανανέωση νερού με τοξική ουσία) τα οποία διήρκεσαν 48 ώρες και διεξήχθησαν σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας (29°C) με διαρκή φωτισμό. Τα ενυδρεία περιείχαν γλυκό νερό με συνεχή παροχή αέρα. Κάποια γνωστά μειονεκτήματα των στατικών πειραμάτων, όπως μείωση των COD και BOD, πιθανή απώλεια τοξικής ουσίας, μικρότερη ευαισθησία μεθόδου λόγω αποδόμησης ουσίας κτλ., λήφθηκαν υπόψη τόσο στην οργάνωση της πειραματικής διαδικασίας όσο και κατά την εξέταση των αποτελεσμάτων των πειραμάτων (USEPA).

Πραγματοποιήθηκαν δυο σειρές πειραμάτων. Η προκαταρκτική σειρά κυμάνθηκε σε συγκεντρώσεις απορρυπαντικού 0,5 – 2 ppm. Η επιλογή των συγκεντρώσεων του προκαταρκτικού πειράματος έγινε με βάση τον όγκο απορρυπαντικού που χρησιμοποιείται σε πραγματικές συνθήκες γεώ-

τρησης και οι οποίες αντιστοιχούν στην ποσότητα που μπορεί να ελευθερωθεί σε τυπικές δεξαμενές πάχυνσης, εκτάσεως 0,25 εκταρίων και βάθους 1,5 m (Πάσχος, 2002), με απευθείας απόρριψη διατρητικών πολτών σε λεκάνες με λιμνάζοντα νερά ή ποτάμια ή ακόμα και στη θάλασσα.

Η δεύτερη σειρά πειραμάτων πραγματοποιήθηκε με συγκεντρώσεις σημαντικά μεγαλύτερες αυτών του προκαταρκτικού πειράματος (20, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 120, 160 ppm) με σκοπό τον προσδιορισμό της ελάχιστης συγκέντρωσης του απορρυπαντικού που προκαλεί θνησιμότητα στα ψάρια καθώς και της LC_{50} . Συνολικά 10 ενυδρεία όγκου 15 λίτρων τοποθετήθηκαν σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας, στα οποία προστέθηκαν 10 λίτρα γλυκού νερού και διαμοιράστηκαν τυχαία (για ανάμιξη πληθυσμού) 100 άτομα *Carassius auratus*. Ένα από τα ενυδρεία αποτέλεσε το δείγμα ελέγχου (τυφλό), στο οποίο διατηρήθηκαν οι ίδιες πειραματικές συνθήκες, χωρίς την προσθήκη απορρυπαντικού. Στα υπόλοιπα ενυδρεία προστέθηκε απορρυπαντικό για την επίτευξη συγκεντρώσεων από 20 – 160 ppm και καταγράφηκε η θνησιμότητα των πειραματόζωων για περίοδο 48 ωρών. Για τον προσδιορισμό των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού, καταγράφηκαν οι τιμές pH, οξυγόνου και θερμοκρασίας και έγιναν παρατηρήσεις σχετικά με τη συμπεριφορά των ζώων. Για τον προσδιορισμό της LC_{50} χρησιμοποιήθηκε μη γραμμική παλινδρόμηση του προγράμματος STATGRAPHICS.

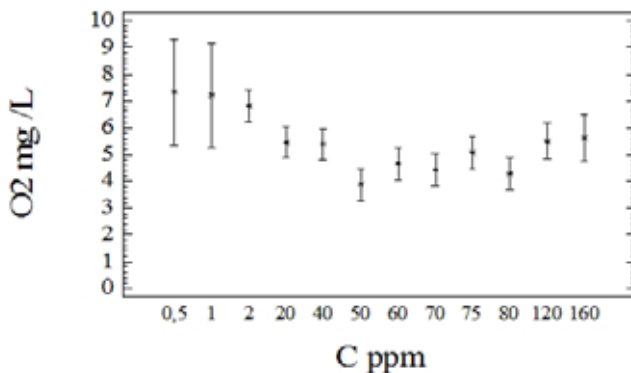
3. Αποτελέσματα

Κατά την πρώτη σειρά των πειραμάτων (0,5 - 2 ppm), η συμπεριφορά των ψαριών ήταν φυσιολογική και δεν προκλήθηκε θνησιμότητα στα πειραματόζωα.

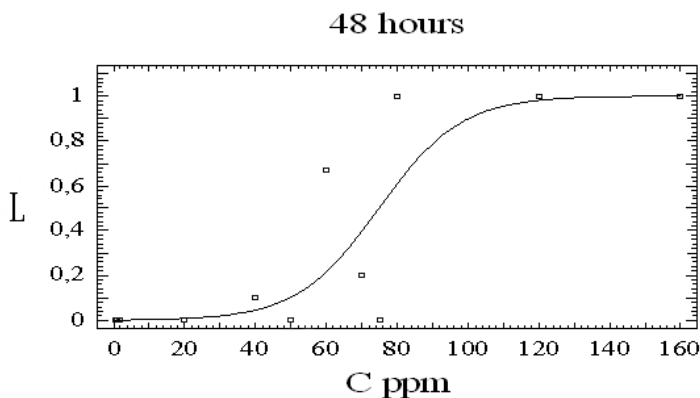
Κατά τη δεύτερη σειρά των πειραμάτων (20, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 120, 160 ppm) στις χαμηλότερες συγκεντρώσεις, ίσες ή μικρότερες των 20 ppm, η συμπεριφορά των ψαριών ήταν φυσιολογική και δεν παρατηρήθηκε θνησιμότητα. Αντίθετα, στις υψηλότερες συγκεντρώσεις, ίσες ή μεγαλύτερες των 40 ppm, η θνησιμότητα κυμάνθηκε από 0 – 100 %, παρατηρήθηκε μειωμένη πλευστότητα και κινητικότητα των ψαριών, μειωμένα αντανακλαστικά, παραγωγή βλενωδών απεκκριμάτων, έντονος αφρισμός και θολερότητα στο νερό.

Η θερμοκρασία του νερού κυμάνθηκε από 24,6 – 29,4°C, το pH διατηρήθηκε σταθερό (7 – 7,5) ενώ το οξυγόνο σε ορισμένα ενυδρεία παρουσίασε σημαντική διακύμανση με την μικρότερη τιμή (3,2 mg/L στις 24h) στη συγκέντρωση των 50 ppm (Εικ. 1).

Χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα της δεύτερης σειράς των στατικών πειραμάτων τοξικότητας 48 ωρών, η τιμή της LC_{50} του απορρυπαντικού υπολογίστηκε σε 75 ppm (Εικ. 2).



Εικ. 1: Διακύμανση οξυγόνου (mg/L) ενυδρείων ανά συγκέντρωση απορρυπαντικού (ppm) που χρησιμοποιήθηκε.



Εικ. 2: Θνησιμότητα για το είδος *Carassius auratus* για χρόνο έκθεσης 48 ωρών σε διαφορετικές συγκεντρώσεις απορρυπαντικού.

4. Συμπεράσματα - Συζήτηση

Με επεξεργασία των αποτελεσμάτων, διαπιστώθηκε ότι θνησιμότητα στο είδος *Carassius auratus* μπορεί να προκληθεί ύστερα από 48 ώρες συνεχούς έκθεσης σε συγκεντρώσεις του απορρυπαντικού άνω των 40 ppm. Οι πρώτες αντιδράσεις των πειραματόζωων σε αυτές τις συγκεντρώσεις ήταν η μειωμένη κολυμβητική ικανότητα, η απώλεια πλευστότητας, η αδυναμία απόκρισης σε εξωτερικά ερεθίσματα και η άνοδος τους στην επιφάνεια. Στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις επήλθε θνησιμότητα σε διάστημα 2 ωρών, ενώ σε μικρότερες τιμές η αρνητική επίδραση του απορρυπαντικού ήταν σταδιακή.

Παρά τη συνεχή ροή οξυγόνου στα ενυδρεία, τα επίπεδά του έπεφταν σημαντικά, αλλά όχι τόσο ώστε να παρουσιαστούν δυσμενείς συνθήκες επιβίωσης για τα χρυσόψαρα. Η μείωση του οξυγόνου πιθανά να οφείλεται στο στρεσάρισμα των ψαριών.

Από τους υπολογισμούς, η LC_{50} για χρόνο έκθεσης 48 ωρών προσδιορίστηκε ως 75 ppm, και φαίνεται να είναι κατά πολύ μεγαλύτερη από τις συγκεντρώσεις απορρυπαντικών που μπορεί να παρατηρηθούν ύστερα από γεωτρήσεις κοντά σε λίμνες, ποτάμια ή μεγάλες υδατοσυλλογές. Βέβαια, αυτό αποτελεί ένα θέμα μελλοντικής μελέτης και συζήτησης για ένα μεγαλύτερο εύρος ειδών ψαριών, τόσο των γλυκών όσο και των αλμυρών νερών.

Στο θαλάσσιο περιβάλλον (τελικός αποδέκτης), η διάλυση των πολτών είναι πολύ γρήγορη και οι συγκεντρώσεις που παρατηρούνται είναι σχεδόν αμελητέες. Σύμφωνα με τον κανονισμό που ισχύει στις Η.Π.Α., ως ανώτατο όριο απόρριψης διατρητικών πολτών στη θάλασσα, ορίζονται τα 30000 ppm. Το όριο αυτό συναντάται συχνά σε γεωτρήσεις στον Κόλπο του Μεξικού (Melton, 2000). Κατά το συγγραφέα, ένας οργανισμός εισερχόμενος σε πυκνό αιώρημα διατρητικού πολτού αυτής της συγκέντρωσης στη θάλασσα, θα εκτεθεί περίπου για 30 δευτερόλεπτα και δεν θα επηρεαστεί λόγω της γρήγορης διάλυσης του διατρητικού πολτού. Επίσης, κατά τους Cranford *et al.* (1999) το κατώτατο όριο των συγκεντρώσεων διατρητικών πολτών που προκαλούν μείωση του ρυθμού σωματικής αύξησης και/ή αναπαραγωγής στα θαλάσσια χτένια του είδους *Placopecten magellanicus*, είναι μεγαλύτερες των 10 mg/l για χρήση λάσπης με βάση το νερό, 2 mg/l για τον μπεντονίτη, και λιγότερο από 0.5 mg/l για το βαρίτη και λάσπες με βάση το πετρέλαιο.

5. Βιβλιογραφικές Αναφορές

- Ahmadit, T., 2007. “Behaviour of Suspensions and Emulsion in Drilling Fluids”. Nordic Reology Society.
- Cranford P. J., Gordon D. C.Jr., Lee K., Armsworthy S. L. and Tremblay G. -H., 1999. “Chronic toxicity and physical disturbance effects of water- and oil-based drilling fluids and some major constituents on adult sea scallops (*Placopecten magellanicus*)”. Environmental Toxicology and Chemistry. pp. 1218–1228.
- Woltering D.M., 1983. «The growth response in fish chronic and early life stage toxicity tests: a critical review», *Aquatic Toxicology*, Elsevier, 5 (1984) 1-21 1.
- Conti E., 1987. «Acute toxicity of three detergents and two insecticides in the lugworm, *Arenicola marina* (L.): a histological and a scanning electron microscopic study», *Aquatic Toxicology*, Elsevier, 10 (1987) 325-334 325.
- FROESE, R. AND PAULY D., EDITORS, 2008. “FishBase”. World Wide Web electronic publication.
- Interim acute exposure guideline levels, 1,4-dioxane, February 2005.
- International Chemical Safety Card, National Institute for Occupational Safety and Health, 2006
- International Union of Pure and Applied Chemistry nomenclature
- Marcelino A. J., Jose L.F.C., Salette R. A, Matos C. B, 2006. «Assessing the effects of surfactants on the physical properties of liposome membranes». Elsevier, Chemistry and Physics of Lipids 146 (2007) 94–103
- Mei, T., Geijer, S., Lindberg, M., Berne, B. & Törmä, H., 2006. «Detergents with different chemical properties induce variable degree of cytotoxicity and mRNA expression of lipid-metabolizing enzymes and differentiation markers in cultured keratinocytes». Elsevier, Toxicology in Vitro 20 (2006) 1387–1394.
- Melton, H.R., Smith, J.P., Martin, C. R., Nedwed, T.J., Mairs, H.L. & Raught, D.L., 2000. “Offshore discharge of drilling of drilling fluids and cuttings – A scientific perspective on public policy”, Brazilian Petroleum Institute – IBP
- OPPT Chemical Fact Sheets 1,4-Dioxane (CAS No. 123-91-1), 2006
- Passino, D.R.M. & Smith, S. B., 1987. “Acute bioassays and hazard evaluation of representative contaminants detected in great lake fish”, Environmental Toxicology and Chemistry, Article pp: 901-907
- USEPA, October. 2002. “Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms”, Fifth Edition.
- Warne, M.S.J. & Schifko, A.D., 1999. «Toxicity of Laundry Detergent Components to a Freshwater Cladoceran and Their Contribution to Detergent Toxicity». Ecotoxicology and Environmental Safety 44, 196 – 206.
- Πάσχος, Γ., 2002. 2002. «Ιχθυοκαλλιέργειες εσωτερικών υδάτων». Γρ. Τεχν. Θεοδωρίδη, Ιωάννινα.