Archive of SID

محیط شناسی، سال سی و هفتم، شمارهٔ ۵۹ ،پاییز ۹۰، صفحهٔ ۱۵-۲۸

تولید زیست توده و حذف آمونیاک و نیتریت از پساب کارگاه پرورش ماهی به‌وسیلهٔ کشت جلبک سبز سندسموس کوادریکوادا

صفی‌اله حیدری[۱]، امیدوار فرهادیان[۲]*، نصراله محبوبی صوفیانی[۳]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان safiollah_heidari@yahoo.com

۲-استادیار دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۳- دانشیار دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان soofiani@cc.iut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۱/۲۷

چکیده

ترکیبات سمی آمونیاک و نیتریت از سیستم‌های پرورش ماهی بخصوص پرورش متراکم حاصل می‌شود. برای ارزیابی کارایی جلبک سبز سندسموس کوادریکوادا در حذف آمونیاک و نیتریت از پساب خروجی کارگاه پرورش متراکم ماهی و همچنین کاربرد آن به‌عنوان یک محیط کشت مناسب برای جلبک سندسموس کوادریکوادا، نمونه‌های آب خروجی از کارگاه پرورش متراکم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جمع‌آوری شد. سپس ۶ تیمار شامل پساب رقیق شده همراه و بدون محیط کشت بی بی ام، پساب خام همراه و بدون محیط کشت، پساب غلیظ شده همراه و بدون محیط کشت، به‌عنوان محیط کشت از پساب تهیه شد. نتایج نشان داد که سندسموس کوادریکوادا بخوبی در تمامی تیمارهای آزمایش شده از پساب خروجی کارگاه رشد کرده و زیاد شده و می‌تواند آمونیاک و نیتریت را به میزان زیادی (حدوداً ۹۰ درصد) کاهش دهد. بیشترین میزان زیست تودهٔ تولیدی(۰/۹۹ گرم بر لیتر)، تعداد سلول جلبکی ($۹۰/۴\times۱۰^{۵}$ سلول در میلی لیتر)، میزان کلروفیل a (۲/۸۹ میلی‌گرم در لیتر) ، درصد حذف آمونیاک (۸۹/۵۷ درصد) و نیتریت (۸۹/۵۳ درصد) در تیمار پساب رقیق شده و حاوی محیط کشت حاصل شد. بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که این جلبک می‌تواند برای حذف آمونیاک و نیتریت و نیز تولید زیست توده جلبکی در سیستم‌های پالایش پساب خروجی کارگاههای پرورش ماهی قبل از ورود به محیط طبیعی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین پساب کارگاه می‌تواند به‌عنوان محیط کشتی مناسب برای تولید انبوه این جلبک استفاده می‌شود.

کلید واژه

سندسموس کوادریکوادا، زیست توده، آمونیاک، نیتریت، پساب کارگاه پرورش ماهی، جلبک سبز

سرآغاز

در آینده‌ای نه چندان دور، یکی از مشکلات جدی جوامع بشری، کمبود آب آشامیدنی است که با توسعهٔ روزافزون صنایع شیلاتی، به‌خصوص کشت و پرورش آبزیان در آبهای شیرین این معضل حادتر خواهد شد. از آنجایی که در کشور ما هیچ‌گونه استاندارد معینی برای پسابهای خروجی کارگاههای پرورش ماهی وجود ندارد، این موضوع سبب شده تا به دور از هر گونه ضابطه‌ای بر تعداد مراکز پرورش آبزیان بویژه در مسیر رودخانه‌هایی که بخشی از آب آنها در حال حاضر مورد شرب قرار می‌گیرد، اضافه شود. از سوی دیگر فعالیت‌های پرورش آبزیان همراه با استفاده از انواع کودهای شیمیایی، مواد غذایی با ترکیبات مختلف، انواع داروها و سموم است، که هر کدام بر آبزیان، انسان و محیط زیست تأثیر متفاوتی دارد (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۳). از جمله ترکیبات زیان‌آور می‌توان به ترکیبات نیتروژن دار، بویژه آمونیاک و نیتریت اشاره کرد. آمونیاک فرم سمی از نیتروژن است که در اثر شکسته شدن پروتئین‌ها در آبزیان و از طریق تجزیه باکتریایی مواد آلی ناشی از مواد غذایی، یا زیست توده و گیاهان آبی وارد محیط آب می‌شود. آمونیاک در مقادیر کم باعث تغییرات فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی و در مقادیر بالا باعث تلفات آبزیان می‌شود (اسماعیلی ساری،۱۳۸۳ ; Campbell, 1999). نیتریت نیز در استخرهای پرورش ماهی بر اثر فرایند نیتریفیکاسیون از آمونیاک تولید می شود و سبب بروز مشکلاتی از قبیل بیماری خون قهوه‌ای در ماهی و سرطان معده و

نویسنده مسئول: تلفن: ۰۳۱۱ ۳۹۱۳۵۶۴ E-Mail: omfarhad@cc.iut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

روده در انسان می‌شود (Campbell, 1999). از سوی دیگر این دو ترکیب به‌خودی خود و همچنین در اثر تبدیل به آمونیوم و نیترات باعث پدیده یوتریفیکاسیون[1] در محیط‌های آبی می‌شوند که بر آب آشامیدنی انسان تأثیر نامطلوب دارد (Zhang, et al., 2008). برای فائق آمدن بر بخشی از مشکلات ذکر شده، یکی از راههای کاهش غلظت ترکیبات آمونیاک و نیتریت، استفاده از فرآیندهای بیولوژیکی در تصفیه کارآمد این آبهاست (Campbell, 1999).

ریزجلبک‌ها دارای نیروی بالایی برای تصفیه پساب هستند (De la Noue & Proulx, 1988). تیمار پساب با استفاده از ریزجلبک‌ها به‌علت وجود مزایایی همچون تولید زیست توده ارزشمند، عدم ایجاد آلودگی اضافی، بازچرخ مواد مغذی، فناوری ساده ،کارایی بالا و هزینه پایین در حذف مواد مغذی، بخصوص نیتروژن، فسفر و سایر آلاینده‌ها مفید است (De la Noue & Proulx, 1988; Tam & Wong, 1989).

Chevalier و De la Noue در سال ۱۹۸۵ و Kawasaki و همکاران در سال ۱۹۸۲ جلبک سبز سندسموس کوادریکوادا[2]را برای آزمایش‌ها حذف آمونیاک مورد استفاده قرار داده و دریافتند که ریزجلبک‌هایی مانند سندسموس، به‌علت رشد بالا و مقاومت شان به دستکاری در سیستم های پرورشی و همچنین فناوری ساده و ارزان تولید، می‌توانند در تصفیهٔ پساب مفید باشند.

تصفیهٔ پساب بوسیله کشت‌های جلبکی علاوه بر این که آلودگی اضافی تولید نمی‌کند، بلکه موجب بازچرخ موثر مواد غذایی می شود، و ابزاری ارزان و کارآمد برای حذف مواد غذایی و فلزات آلاینده، بخصوص فلزات سنگین بوده که خود سبب ایجاد ایمنی اکولوژیکی در اکوسیستم‌های آبی می‌شود (Tam & Wong, 1989). مزیت استفاده از جلبک‌ها در سیستم‌های تصفیهٔ پساب این است که به‌علت بازچرخ مواد غذایی و مصرف آنها با جلبک‌ها، احتمال وقوع یوتروفیکاسیون و سایر خسارات اکولوژیکی کاهش می‌یابد (Voltolina, et al., 2004).

باید توجه داشت که عملکرد جلبک‌ها تحت تأثیر ماهیت پساب، یا فاضلاب قرار دارد. نسبت بین C:N:P در پسآبهای مختلف متفاوت است. برای مثال اوسوالد در سال ۱۹۷۸ بیان کرد که مقدار نیتروژن و فسفر فاضلاب خانگی نسبت به کربن آن کمتر است و این می‌تواند در محدود کردن رشد ریزجلبک موثر باشد.

اگر چه مطالعات گسترده‌ای در مورد کاربرد جلبک‌های گوناگون از جمله کلروفیت ها[3] در کاهش و حذف ترکیبات نیتروژن‌دار، بخصوص آمونیاک و نیتریت و تصفیه پساب انجام شده است (Tam & Wong, 1989; Abdel Hameed, 2002; Abe et al., 2002) اما مطالعات در ایران به صورت موردی بوده و در ارتباط با عملکرد بسیاری از گونه‌ها از جمله سندسموس کوادریکوادا در پالایش پسآبهای دارای کیفیت و کمیت گوناگون، اطلاعات مستند و کافی در دسترس نیست. در این آزمایش از این گونه جلبک سبز کلروفیت، برای نیل به اهداف مذکور استفاده شد. این جلبک ساکن آبهای شیرین و شاخص زیستی این محیط‌هاست. سلول‌های این جلبک غیرمتحرک و فاقد تاژک است و گاهی اوقات تشکیل کلونی می‌دهد (ریاحی، ۱۳۸۱).

هدف اصلی این پژوهش بررسی کارایی جلبک سبز سندسموس کوادریکوادا در حذف ترکیبات نیتروژن‌دار معدنی آمونیاک و نیتریت از پساب کارگاه پرورش ماهی و برآورد نیروی پساب مذکور به‌عنوان محیط کشتی مناسب برای پرورش و تولید زیست توده[4] این جلبک است.

مواد و روشها

جمع آوری و خالص سازی جلبک سندسموس کوادریکوادا

جمع‌آوری جلبک سندسموس کوادریکوادا از آب استخرهای خاکی کارگاه پرورش ماهی کرسگان در استان اصفهان صورت گرفت. جلبک سندسموس پس از مشاهده با میکروسکوپ اینورت (مدل ستی[5]، ساخت بلژیک) به کمک کلیدهای موجود شناسایی شد و با استفاده از روش لاونز و سورژیلوس با کشت بر روی آگار خالص‌سازی شد (Lavens & Sorgeloos, 1996).

بعد از کشت‌های متوالی در لولهٔ آزمایش و ارلن مایرهای۲۵۰ میلی لیتر و اطمینان از خالص بودن جلبک، پرورش جلبک در ارلن مایرهای دولیتری با محیط کشت مناسب بی بی ام[6] انجام شد تا ذخیره اولیه[7] جلبک سندسموس برای انجام آزمایش فراهم شود (Nichols, 1973) .

برای کشت جلبک، دو لیتر آب مقطر در ارلن مایرهای شیشه‌ای ریخته شده و به آن مقدار ۱۳ میلی لیتر در لیتر محیط کشت بی بی ام اضافه شد و سپس با استفاده از پی اچ متر (مدل ۷۴۴ متروم[8]، ساخت سوئیس) اسیدیته ابتدای کشت ۶/۸ تنظیم شد.

در مرحلهٔ بعد ظروف حاوی محیط کشت جلبک به همراه لوله‌های هوادهی و پنبه‌های کتانی مورد نیاز در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه اتوکلاو (مدل ۱۲۱ آ[9]، شرکت ایران تولید، ساخت ایران) ضدعفونی و استریل شد.

www.SID.ir

Archive of SID

پس از اتمام اتوکلاو و همدما شدن با دمای آزمایشگاه، محلول ویتامین ب [10] طبق دستورالعمل اختصاصی کشت (۳ میلی لیتر در لیتر) به ظرف کشت اضافه شد و سپس با رعایت شرایط استریل، به هم زده شد.

۲۰۰ میلی لیتر از ذخیره جلبک سندسموس (با غلظت 10^5سلول در میلی لیتر) به محیط کشت دارای ویتامین اضافه شد و در دمای ۲±۲۲ درجه سانتیگراد و شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه، و در پروتکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی قرار داده شد (Nichols, 1973).

نحوه انجام آزمایش

به منظور ارزیابی اثر جلبک سندسموس کوادریکوادا بر پساب غنی از ترکیبات نیتروژن دار، آزمایشی با ۶ تیمار و ۳ تکرار در طرح کامل تصادفی انجام شد. برای انجام این آزمایش، پساب خروجی کارگاه پرورش متراکم ماهی قزل آلای رنگین کمان ازکارگاه پویان کسری واقع در روستای رستم آباد اردل در استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری شد. با استفاده از این پساب کارگاهی، ۶ تیمار گوناگون مطابق جدول شمارهٔ (۱) تهیه شد. تیمارهای رقیق‌تر از پساب کارگاه با رقیق کردن پساب با آب معمولی تهیه شد تا غلظت آمونیاک و نیتریت آنها به نصف کاهش یابد.

تیمارهای غلیظتر از پساب کارگاه با اضافه کردن کلرید آمونیوم و نیتریت سدیم به عنوان منابع آمونیاک و نیتریت به پساب کارگاه تهیه شد. برای تیمارهایی که نیاز به افزودن محیط کشت بود، از محیط کشت بی بی ام به میزان ۱۳ میلی لیتر در لیتر استفاده شد (Nichols, 1973).

جدول شمارهٔ (۱): مقادیر اولیه آمونیاک و نیتریت و بی بی ام در تیمارهای مختلف پساب برای کشت جلبک سندسموس کوادریکوادا

تیمارهای آزمایشی	نوع پساب	میزان آمونیاک* (mg/l)	میزان نیتریت* (mg/l)	میزان آمونیاک و نیتریت (mg/l)	محیط کشت بی بی ام	علامت تیمار
۱	پساب رقیق شده	۰/۱۰۸	۰/۶۲۳	۰/۷۳۱	دارد	L+BBM
۲		۰/۰۷۲	۰/۵۸۷	۰/۶۵۹	ندارد	L-BBM
۳	پساب خام	۰/۲۱۳	۱/۲۳۹	۱/۴۵۲	دارد	M+BBM
۴		۰/۱۶۶	۱/۲۰۴	۱/۳۷۰	ندارد	M-BBM
۵	پساب غلیظ شده	۰/۴۴۴	۲/۴۷۷	۲/۹۲۱	دارد	H+BBM
۶		۰/۳۲۲	۲/۴۱۲	۲/۷۳۴	ندارد	H-BBM

(* غلظت‌های آمونیاک و نیتریت برحسب نیتروژن آمونیاکی (NH_3-N) و نیتروژن نیتریته (NO_2-N)،
(علایم L، M و H به ترتیب نوع پساب را در حالت‌های رقیق ، خام و غلیظ نشان می دهد.)

در جریان آزمایش ۱۸ ارلن مایر ۲ لیتری برای تیمارها در نظر گرفته شد و به هر کدام ۱۹۰۰ میلی لیتر پساب تیمار شده و ۱۰۰ میلی لیتر جلبک سندسموس (با غلظت 4×10^5 سلول در میلی لیتر) از قبل کشت داده شده، اضافه شد. شرایط کشت جلبک به روش شرح داده شده در مرحله قبل تنظیم شد.

طول دورهٔ آزمایش سه هفته بود، که در روزهای۱، ۷، ۱۴و ۲۱ از هر تیمار نمونه‌برداری و به‌منظور اندازه‌گیری تعداد سلولهای جلبک، زیست توده خشک، کلروفیل a، آمونیاک و نیتریت مورد استفاده قرار گرفت.

شمارش جلبک‌ها با استفاده از لام هموسیتومتری [11] و با روش پیشنهاد شده Martinez و همکاران در سال ۲۰۰۰ انجام شد. زیست تودهٔ خشک جلبک‌ها را با استفاده از روش پیشنهاد شده Lavens و Sorgeloos در سال ۱۹۹۶ با توزین حجم معینی از جلبک های شمارش شده بدست آوردند. میزان رشد ویژه (SGR) [12] با استفاده از رابطه $SGR= (\ln N_2-\ln N_1)/\Delta t$ محاسبه شد که در آن N_2 تعداد سلولهای جلبک در انتهای آزمایش و N_1 تعداد سلولهای جلبک در ابتدای آزمایش و Δt مدت زمان انجام آزمایش است (Omori & Ikeda, 1984). زمان دوبرابر شدن (DT) [13] جمعیت جلبک ها با استفاده از رابطهٔ $DT=\log^2_e$ /SGR محاسبه شد (Omori & Ikeda, 1984).

اندازه‌گیری کلروفیل a نمونه‌ها را پس از فیلتراسیون نمونه‌ها و افزودن استون و سانتریفیوژ آنها با قرائت میزان جذب نمونه‌ها با اسپکتروفتومتر (مدل جنوی [14])در طول موج‌های ۶۶۴، ۶۴۷ و ۶۳۰ نانومتر با روش شرح داده شده Parsons و همکاران (۱۹۶۳) انجام دادند. سپس میزان کلروفیل a با استفاده از رابطه ذیل محاسبه شد:

کلروفیل a =$11.85(OD_{664})-1.54(OD_{647})- 0.08\ (OD_{630})$

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری آمونیاک پس از سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها و حذف جلبک از آنها و اضافه کردن معرف‌های مختلف، با قرائت میزان جذب در نمونه‌ها، معرف بلانک و محلول‌های استاندارد با اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر با روش Boyd (۱۹۷۹) انجام شد.

اندازه‌گیری نیتریت پس از اضافه کردن معرف‌های مختلف و آنگاه قرائت میزان جذب نمونه‌ها، معرف بلانک و محلول استاندارد با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۳ نانومتر با روش Boyd (۱۹۷۹) صورت گرفت.

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با تجزیهٔ واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) پس از حصول اطمینان از مفروضات تجزیه واریانس انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی دار ۵٪ استفاده شد (Zar, 1984). کارهای آماری لازم با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام شد (SPSS, 2002).

نتایج

نتایج تجزیه‌وتحلیل واریانس یکطرفه، در طول هفته‌های متوالی آزمایش نشان داد که تیمارهای مختلف آزمایشی بر مشخصه‌های مختلف اندازه گیری شده تأثیر بسیار معنی‌داری دارد (P<۰/۰۱ ، جدول شمارهٔ ۲). میانگین زیست توده ، تعداد سلول، میزان کلروفیل a، میزان رشد ویژه و زمان دوبرابر شدن کشت‌های سندسموس کوادریکوادا در تیمارهای مختلف پساب در اشکال شمارهٔ (۱و ۲) ارایه شده است.

بیشترین میانگین زیست توده سندسموس کوادریکوادا در هفته اول از تیمار L+BBM (۱/۰۱میلی گرم در میلی لیتر)، در هفته دوم و سوم از تیمار M+BBM (به ترتیب ۱/۳۳ و ۱/۰۴ میلی‌گرم در میلی لیتر) بدست آمد در حالی که کمترین میانگین زیست توده خشک در هفته اول از تیمار M+BBM (۰/۳۵میلی‌گرم در میلی لیتر)، در هفته دوم از تیمار L-BBM (۰/۵۶میلی‌گرم در میلی لیتر) و در هفته سوم از تیمارهای H-BBM (۰/۴۶میلی‌گرم در میلی لیتر) بدست آمد (شکل شمارهٔ ۱–A).

نتایج ارایه شده در شکل شمارهٔ ۱–B نشان داد که بیشترین میانگین تعداد سلول جلبکی بدست آمده در هفتهٔ اول از تیمار L+BBM ($۲/۵۶\times۱۰^{۶}$ سلول در میلی لیتر)، در هفتهٔ دوم از تیمارهای H+BBM ($۴/۰۸\times۱۰^{۶}$ سلول در میلی لیتر) و L+BBM (۴×۱۰^{۶} سلول در میلی لیتر) و در هفته سوم از تیمار L+BBM ($۹/۰۴\times۱۰^{۶}$ سلول در میلی لیتر) بود. بیشترین میزان کلروفیل a به‌دست آمده، در هفته اول و دوم از تیمار H+BBM (به ترتیب ۱/۷۰و ۲/۴۵میلی‌گرم در لیتر) و در هفته سوم از تیمار L+BBM (۱/۹۴ میلی‌گرم در لیتر) بود (شکل شمارهٔ ۱–C).

بیشترین میزان رشد ویژه و کمترین زمان دو برابر شدن جمعیت سندسموس کوادریکوادا در هفته اول از تیمار L+BBM (به ترتیب ۰/۲۷ در روز، ۲/۶۱ روز) ، در دو هفته اول از تیمار H+BBM (به ترتیب ۰/۱۷ در روز، ۴/۱۸ روز) و در کل دوره از تیمار L+BBM (به ترتیب ۰/۲۲ در روز ، ۳/۱۱ روز) بود (شکل شمارهٔ ۲–A و B).

نتایج نشان داد که کارایی حذف آمونیاک و نیتریت توسط سندسموس کوادریکوادا در تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار در طی روزهای مختلف آزمایش است (شکل شمارهٔ ۳–A و B). به‌طوری‌که اگر داده‌های روز پایانی آزمایش (روز ۲۱ آزمایش) را به‌عنوان معیار کارآیی جلبک سندسموس کوادریکوادا در نظر بگیریم، می‌توان میزان حذف آمونیاک و نیتریت را به‌صورت شکل شمارهٔ (۴–A و ۴–B)نشان داد.

بر این اساس می‌توان بیان کرد که بالاترین درصد حذف آمونیاک در تیمار L+BBM (۹۰٪) و پایین‌ترین درصد حذف آمونیاک در تیمار H-BBM (۵۴٪) بود (شکل۴–A)، در حالی که بالاترین درصد حذف نیتریت در تیمار L+BBM (۹۰٪) و پایین ترین درصد حذف نیتریت در تیمار H-BBM (۵۲٪) اندازه‌گیری شد (شکل شمارهٔ ۴–B).

ارتباط و همبستگی مشخصه‌های مختلف اندازه‌گیری شده در جدول شمارهٔ (۳) ارایه شده است. این نتایج حاکی از عدم وجود همبستگی معنی‌دار بین مقدار کلروفیل a و حذف ترکیبات نیتروژن دار آمونیاک و نیتریت است ($P>0.05$)، در حالی که درصد حذف آمونیاک و نیتریت با زیست توده ، تعداد سلول جلبک، و میزان رشد جلبک ارتباط مستقیم و معنی‌داری دارند($P<0.05$).

به‌طورکلی با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان بیان کرد که با این‌که جلبک سندسموس کوادریکوادا بر روی تمامی تیمارهای آزمایش شده از پساب بخوبی رشد کرده و میزان آمونیاک و نیتریت پساب را کاهش می‌دهد اما مناسب‌ترین میانگین شرایط مشخصه‌های رشد و تولید جلبک سندسموس کوادریکوادا در پساب رقیق شده به همراه محیط کشت (تیمار L+BBM) به‌دست آمد که بهترین میانگین اثر جلبک سندسموس کوادریکوادا برکاهش آمونیاک و نیتریت پساب را نیز دارد.

www.SID.ir

Archive of SID

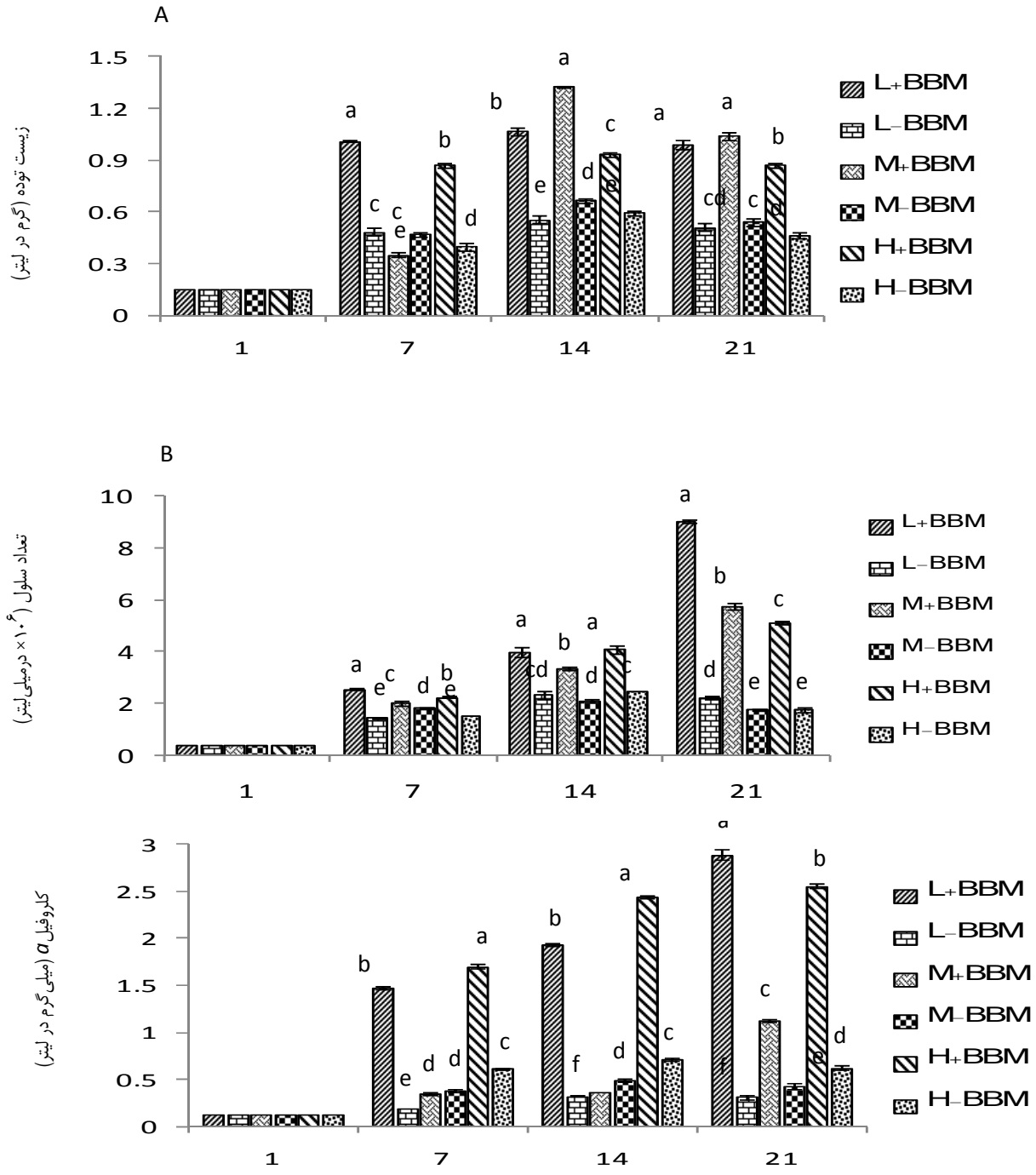
جدول شمارهٔ (۲): تجزیه‌وتحلیل واریانس مشخصه‌های اندازه گیری شده در تیمارهای مختلف آزمایشی طی سه هفته پرورش جلبک سندسموس کوادریکوادا

شاخص	منابع تنوع	درجه آزادی	هفته اول		هفته دوم		هفته سوم	
			میزان F	سطح معنی دار	میزان F	سطح معنی دار	میزان F	سطح معنی دار
تعدادسلول	تیمارها	۵	۱۱۷/۱۱۳	**	۷۸/۱۱۷	**	۱۹۷۰/۲۹۲	**
	خطا	۱۲						
	کل	۱۷						
زیست توده خشک	تیمارها	۵	۴۳۹/۶۰۶	**	۵۴۱/۷۲۰	**	۲۱۷/۸۳۸	**
	خطا	۱۲						
	کل	۱۷						
میزان رشد ویژه (SGR)	تیمارها	۵	۱۲۵/۶۱۴	**	۸۷/۳۷۲	**	۱۰۴۳/۹۱۹	**
	خطا	۱۲						
	کل	۱۷						
زمان دوبرابرشدن (DT)	تیمارها	۵	۱۴۳/۴۴۴	**	۷۶/۳۹۱	**	۳۴۷/۶۱۱	**
	خطا	۱۲						
	کل	۱۷						
کلروفیل a	تیمارها	۵	۲۶۱۶/۴۱۶	**	۸۳۳۳/۴۷۷	**	۲۲۲۳/۸۹۹	**
	خطا	۱۲						
	کل	۱۷						
آمونیاک	تیمارها	۵	۲۴۶۱/۱۹۵	**	۱۰۰۶/۶۷۰	**	۶۳۱/۴۱۹	**
	خطا	۱۲						
	کل	۱۷						
نیتریت	تیمارها	۵	۶۲۰۵۳/۱۸	**	۲۶۷۳۷/۰۳	**	۱۶۳۲۳	**
	خطا	۱۲						
	کل	۱۷						

www.SID.ir

**: معنی دار در سطح ۰/۰۱ (P<۰/۰۱)

Archive of SID

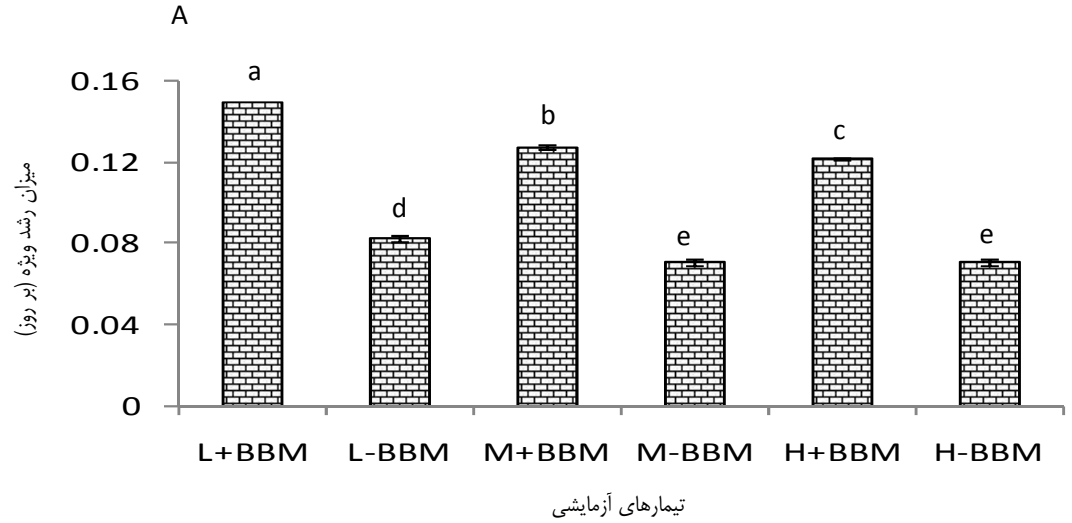


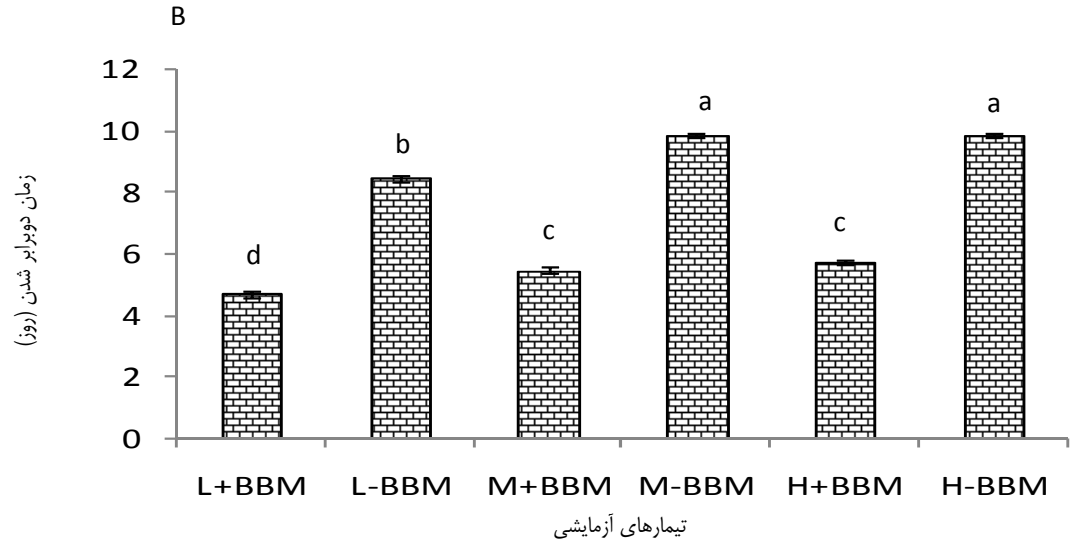
شکل شمارهٔ (۱): تاثیر تیمار های مختلف پساب بر میانگین شاخص‌های زیستی(A: زیست توده، B: تعدادسلول و C: کلروفیل*a*) جلبک سندسموس کوادریکوادا در روزهای مختلف آزمایش (۱۴،۱،۷و۲۱).

(ستون دارای یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار هستند(آزمون دانکن).

www.SID.ir

Archive of SID



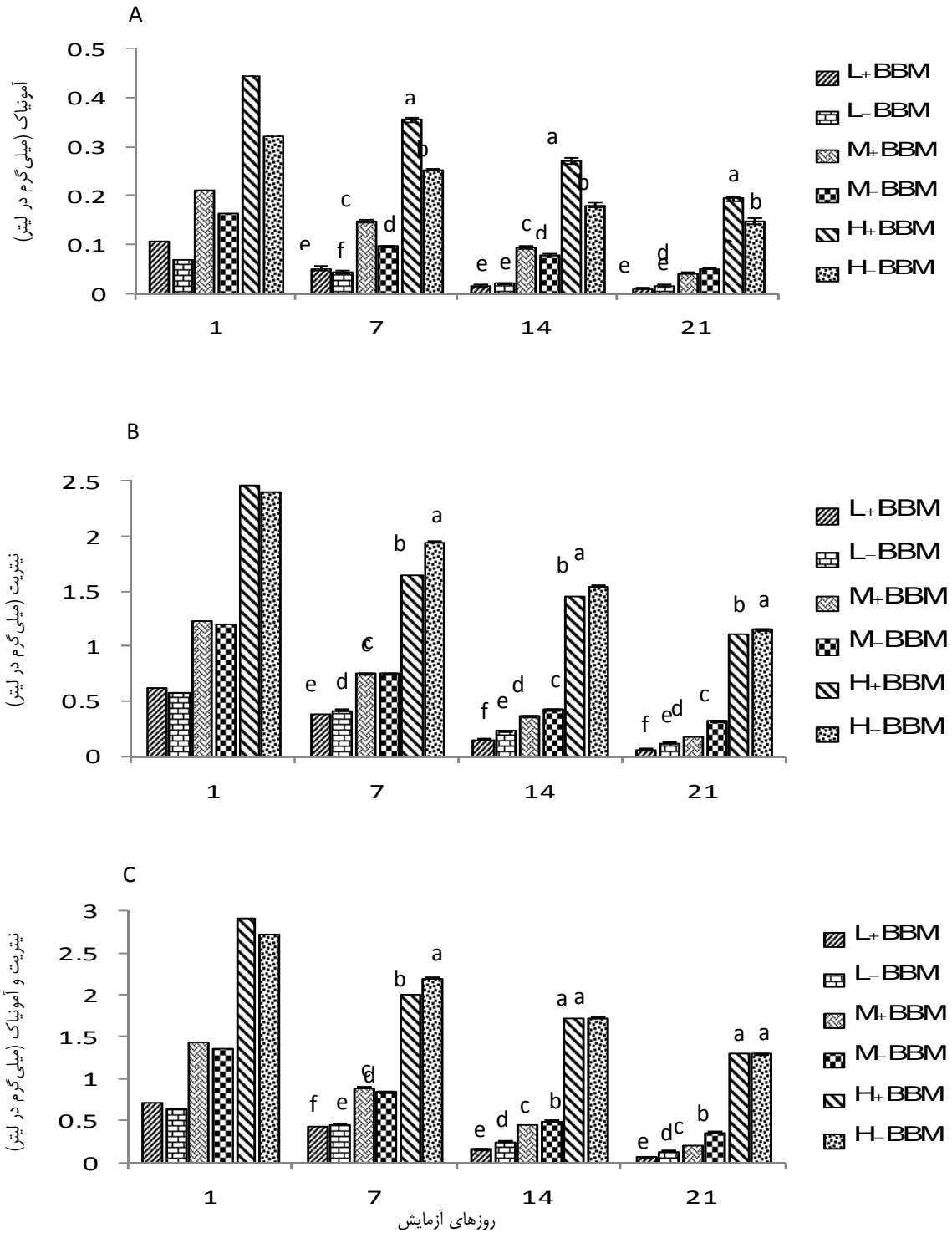


شکل شمارهٔ (۲): تاثیر تیمار های مختلف پساب بر میانگین شاخص‌های رشد (A: میزان رشد ویژه و B: زمان دوبرابرشدن) جلبک سندسموس کوادریکوادا درپایان دورهٔ آزمایش (روز۲۱).

(ستون دارای یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار هستند(آزمون دانکن).

www.SID.ir

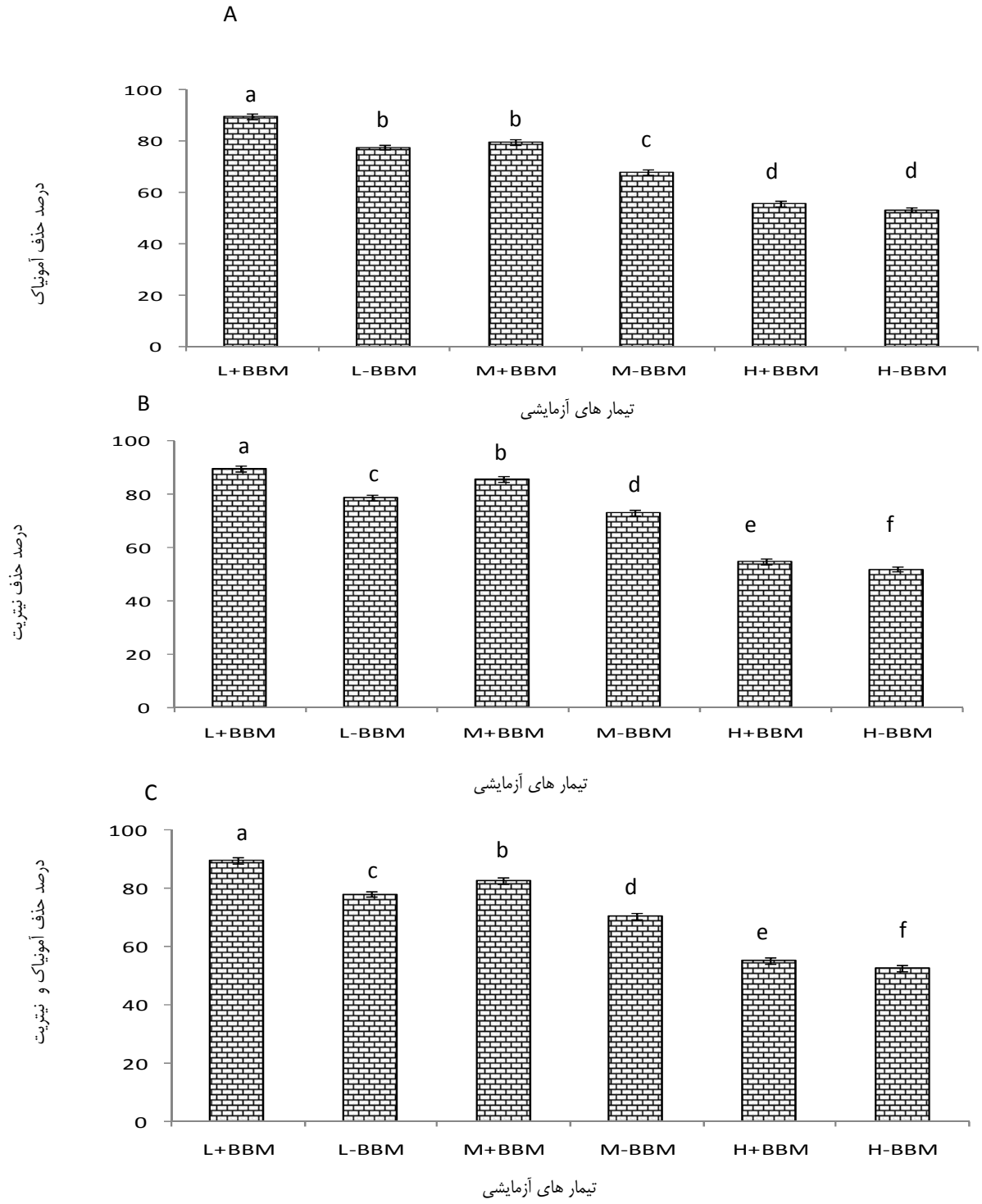
Archive of SID



شکل شمارهٔ (۳): میانگین باقیمانده آمونیاک (A)، نیتریت (B) و مجموع آمونیاک و نیتریت (C) در تیمارهای مختلف پساب در روزهای مختلف آزمایش (ستون دارای یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار هستند(آزمون دانکن).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل شمارهٔ (۴): درصد حذف آمونیاک (A) ، درصد حذف نیتریت (B) و درصد حذف آمونیاک و نیتریت (C) طی ۲۱ روز پرورش جلبک سندسموس کوادریکوادا در تیمارهای مختلف آزمایشی.

(ستون دارای یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار هستند(آزمون دانکن)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شمارهٔ (۳): ضریب همبستگی پیرسون (r) برای شاخص‌های مختلف اندازه‌گیری شده و کارایی حذف آمونیاک و نیتریت پساب در کشت های جلبک سندسموس کوادریکوادا

	زیست توده خشک	تعداد سلول	کلروفیل *a*	میزان رشد ویژه	درصد حذف آمونیاک	درصد حذف نیتریت	درصد حذف آمونیاک و نیتریت
زیست توده خشک	۱						
تعداد سلول	**۰/۸۹۶	۱					
کلروفیل *a*	**۰/۷۴۶	**۰/۸۷۱	۱				
میزان رشد ویژه	**۰/۹۵۰	**۰/۹۷۸	**۰/۸۶۶	۱			
درصد حذف آمونیاک	**۰/۴۷۴	**۰/۵۹۷	^{ns}۰/۲۰۵	*۰/۵۳۵	۱		
درصد حذف نیتریت	**۰/۴۸۶	*۰/۵۳۷	^{ns}۰/۱۰۹	*۰/۴۸۹	**۰/۹۶۸	۱	
درصد حذف آمونیاک و نیتریت	**۰/۴۸۴	**۰/۵۷۰	^{ns}۰/۱۵۶	**۰/۵۱۵	*۰/۹۹۱	*۰/۹۹۳	۱

*: معنی دار در سطح ۰/۰۵ (P<۰/۰۵) ؛ **: معنی دار در سطح ۰/۰۱ (P<۰/۰۱) ؛ ns: معنی دار نبودن

بحث و نتیجه‌گیری

رشد چشمگیر جلبک‌ها در آبهای غنی از مواد غذایی یک پدیده عمومی است که نقش مهمی در حذف انواع مواد معدنی و مواد حاصل از فعالیت‌های متابولیکی موجودات زنده دارد (Geetha, et al., 1994). مقدار مواد غذایی بازچرخ شده به زیست توده جلبکی تبدیل می شود که به همراه میزان فعالیت‌های بیولوژیکی و اثر آن بر روی کیفیت آب باید مورد ارزیابی دقیق قرار گیرد. مقایسه ساده غلظت‌های ابتدایی و نهایی مواد غذایی می‌تواند منجر به ارزیابی جلبک‌ها به‌عنوان بازچرخ‌کنندگان مواد غذایی شود (Voltolina, et al., 2004). فرایند در سیستم توام[15] پساب و جلبک بدین صورت است که پساب غنی از نیتروژن و فسفر به همراه دی‌اکسیدکربن و انرژی خورشیدی، فراهم‌کنندهٔ شرایط مناسب برای رشد و تکثیر میکروآلگ‌ها است که سرانجام منتج به تولید زیست تودهٔ مفید جلبکی و کاهش نیتروژن و فسفر پساب خواهد شد.

زیست توده تولید شده به نوبه خود موجب افزایش تولیدات زیستی[16] و سوخت زیستی[17] می‌شود که از این نظر یکی از کاراترین جذب‌کنندگان دی‌اکسیدکربن اتمسفری که در نتیجه به حفاظت از محیط زیست نیز کمک می‌کند و همچنین ابزار تولید انرژی از طریق سوخت گیاهی است (Tam & Wong, 1989).

یافته‌های این تحقیق نشان داد که جلبک سندسموس کوادریکوادا در تیمارهای مختلف غنی از نیتروژن رشد کرده و با توجه به میزان بقای بالا و رشد مناسب، این گونه نیروی بالقوه مناسبی برای تصفیه زیستی پساب‌های غنی از نیتروژن دارد. بالاترین زیست توده، تعداد سلول و میزان رشد ویژه در جلبک سندسموس کوادریکوادا و همچنین بالاترین کارایی حذف نیتریت و آمونیاک در تیمار پساب رقیق شده و همراه محیط کشت (تیمار L+BBM) حاصل شد. بنابراین بنظر می‌رسد که برای تصفیه بهتر پساب بایستی نسبت به رقیق‌سازی آن اقدام شود و جلبک ترجیحا به همراه محیط کشت به آن اضافه شود تا کارایی فرایند تصفیه بهتر شود. سایر مطالعات نیز به‌طور مشخصی بر توانایی جلبک‌ها در حذف آمونیاک و سایر ترکیبات معدنی و غذایی نیتروژن‌دار از محیط‌های آبی تأکید کرده‌اند (Martin et al., Zhang et al., 1985; 2008). Martin و همکاران در سال ۱۹۸۵ حذف روزانه ۲ میلی‌گرم در لیتر از آمونیوم در کشت‌های دارای جلبک سندسموس را گزارش کردند. جلبک سندسموس توانایی حذف ۹۹/۱٪ نیتروژن (NH_4^+-N) در فاضلاب‌های شهری را نشان داده است (Zhang et al., 2008). Geetha و همکاران در سال ۱۹۹۴ گزارش دادند که جلبک سبز کلرلا[18] بخوبی در پساب رشد کرده و زیست توده چشمگیری تولید می‌کند و همچنین باعث کاهش آمونیاک بطور عمده‌ای (بیشتر از ۹۰٪) می‌شود. علاوه بر این، Martinez و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که جلبک سبز سندسموس ابلیکوس[19] توان فوق‌العاده برای رشد داخل پساب‌ها دارد، زیرا که قادر به تحمل محدوده وسیعی از دما و پی اچ است. مورد مشابه‌ای نیز توسط Abe و همکاران در سال ۲۰۰۲ برای ریزجلبک ترنته پولیا آئوره آ[20] بیان شد که به‌علت دارا بودن سلول‌های مقاوم به غلظت‌های بالای یون نیتریت می‌تواند به‌منظور پالایش پساب ایفای نقش کند.

Yalcin و همکاران در سال ۲۰۰۶ به این نتیجه رسیدند که ریزجلبک‌ها می‌توانند به‌عنوان حذف‌کنندگان مؤثر مواد غذایی آب درنظر گرفته شوند. کارایی عملکرد آنها از طریق جذب فعال مواد

www.SID.ir

Archive of SID

غذایی و استفاده از آن برای تولید زیست توده می باشد. کارایی جلبک‌ها در تصفیه پسآبها تابع نوع گونه، حجم توده جلبکی، پی اچ، هوادهی و زمان مناسب برای حداکثر فعالیت جلبک بر روی پساب، کیفیت و کمیت پساب از جمله نوع و غلظت مواد مغذی می باشد (Tam & Wong, 1989; Abdel Hameed, 2002; Abdel Hameed, 2007). یافته های این تحقیق نشان داد که جلبک سندسموس کوادریکوادا در تیمار پساب خام بدون محیط کشت (M-BBM) دارای کارایی حذف آمونیاک به میزان ۶۸ درصد و کارایی حذف نیتریت به میزان ۷۳ درصد است. در همین راستا De la Noue و Proulx در سال ۱۹۸۸ و Chevalier و De la Noue در سال ۱۹۸۵ نیز کارایی حذف آمونیاک را به ترتیب بوسیله سندسموس دیمورفوس[۲۱] و سندسموس کوادریکوادا در حدود ۳۳ درصد گزارش کردند. مطالعه‌ای نیز توسط Gonzalez و همکاران در سال ۱۹۹۷ نشان دادند که گونه سندسموس دیمورفوس نسبت به گونه کلرلا ولگاریس[۲۲] در حذف آمونیاک پساب در طول تصفیه زیستی، کارایی بالاتری دارد. همچنین Tam و Wong در سال ۱۹۸۹ نشان دادند که کشت کلرلا و سندسموس یکی از روشهای امکان‌پذیر برای کاهش مقداری از نیتروژن و فسفر است و استخرهای جلبکی با میزان باروری بالای کلرلا و سندسموس می‌توانند برای تصفیه پساب مناسب باشند.

یافته‌های این پژوهش حاکی از وجود همبستگی بین حذف نیتروژن پساب با وزن خشک و تعداد سلول جلبکی است، به‌طوری‌که با افزایش وزن خشک وتعداد سلول جلبکی، درصد آمونیاک و نیتریت حذف شده از پساب افزایش می‌یابد. به‌طور مشابه، Singh و Dhar در سال ۲۰۰۷ نیز همبستگی معنی‌داری بین کارایی حذف نیتروژن با وزن خشک جلبک در دو گونه جلبک نوستوک موسکوروم[۲۳] و آنابنا واریابیلیس[۲۴] گزارش کرده است. از دیگر عوامل تأثیرگذار بر حذف ترکیبات نیتروژن‌دار از پساب می‌توان به میزان نور اشاره کرد (Voltolina, et al., 2004).

امروزه با گسترش فعالیت‌های شیلاتی و آبزی پروری به‌خصوص پرورش متراکم آبزیان و مصرف فراوان غذاهای دستی کنسانتره که حاوی پروتئین بالا است، مقادیر زیادی از ترکیبات نیتروژن دار بویژه آمونیاک و نیتریت (سمی) به لحاظ آمین‌زدایی[۲۵] پروتئین‌ها به آبهای داخلی وارد می‌شود. در چنین شرایطی هدایت کردن پساب کارگاه به حوضچه‌های دارای جلبک‌هایی همچون سندسموس کوادریکوادا قبل از ورود پساب کارگاه به اکوسیستم‌های آبی طبیعی می‌تواند به‌منظور حذف ترکیبات نیتروژن‌دار و تولید زیست توده جلبکی زیاد مفید باشد.

www.SID.ir

پیشنهادات

برای تولید زیست توده جلبکی و تصفیه پساب با بالاترین بازده و کمترین هزینه پیشنهاد می‌شود ترکیب شیمیایی پساب از نظر مواد مغذی بررسی و با ترکیب شیمیایی محیط کشت جلبک مقایسه شود و کمبودها به آن افزوده شود. همچنین توصیه می‌شود که گونه‌های جلبکی بومی موجود در پساب های محلی شناسایی و مطالعاتی از این قبیل بر روی آنها متمرکز شود. علاوه بر این تمرکز چنین مطالعاتی در خروجی‌های پرورش ماهی با دستیابی به فناوری لازم دید واقعی‌تری از موضوع می‌دهد و سودمندی جلبک‌ها را به‌عنوان کارآترین پالایش‌گرهای زیستی آشکارتر خواهد ساخت

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه صنعتی اصفهان به لحاظ فراهم آوردن بودجه و امکان تحقیق و همچنین از کارشناسان گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی که نهایت همکاری را در انجام این تحقیق به‌عمل آوردند تشکر و سپاسگزاری می‌شود.

یادداشت ها

1- Eutrophication
2- Scenedesmus quadricauda
3- Chlorophyta
4- Biomass
5- CETI
6- Bold Basal's Medium (BBM)
7- Stock
8- Metrohm
9- 121A
10- Vitamin B
11- Haemacytometer
12- Specific Growth Rate
13- Doubling time
14- JENWAY
15- Integrated system
16- Bioproducts
17- Biofu
18- *Chlorella*
19- *Scenedesmus obliquus*
20- *Trentepohlia aurea*
21- *Scenedesmus dimorphus*
22- *Chlorella vulgaris*
23- *Nostoc muscorum*
24- *Anabaena variabilis*
25- Deamination

Archive of SID

منابع مورد استفاده

اسماعیلی ساری، ع. ۱۳۸۳. هیدروشیمی بنیان آبزی پروری، انتشارات اصلانی، ۲۴۹ صفحه.

ریاحی، ح.۱۳۸۱. جلبک شناسی، انتشارات دانشگاه الزهرا، تهران، ۲۵۶ صفحه.

Abdel Hameed,M.S. 2002. Effect of immobilization on growth and photosynthesis of the green alga *Chlorella vulgaris* and its efficiency in heavy metals removal. Bull. Fac. Sci. Assiut Uni, 31: 233-240.

Abdel Hameed,M.S. 2007. Effect of algal density in bead, bead size and bead concentrations on wastewater nutrient removal. Afr. J. Biotech, 6: 1185-1191.

Abe,K., A.,Imamaki , M.,Hirano. 2002. Removal of nitrate, nitrite, ammonium and phosphate ions from water by the aerial microalgae *Trentepohlia aurea*. J. Appl. Phyco, 14: 129-134.

Boyd,C.E. 1979. Water quality in warm water fish ponds. Craft master Printers, Inc, Opelika, Alabama., 359 pp.

Campbell,W.H. 1999. Nitrate Reductase Structure, Function and Regulation: Bridging the Gap Between Biochemistry and Physiology. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol, 50: 277-303.

Chevalier,P. , J.,De la Noue. 1985. Efficiency of immobilized hyperconcentrated algae for ammonium and orthophosphate removal from wastewaters. Biotech. Lett, 7: 395-400.

De la Noue, J., D.,Proulx. 1988. Biological tertiary treatment of urban wastewaters with chitosan immobilized *Phormidium*. Appl. Microbiol. Biotechnol, 29: 292-297.

Geetha,P.K., et al. 1994. Rubber effluent treatment in a high-rate algal pond system. In: Phang S. M., Lee, Y. K., Borowitzka, M. & Whitton, B. (Eds.), Proceeding of the 1st Asia-Pacific Conference on algal Biotechnology. University of Malaya, Kuala Lumpur: p. 306-312.

Gonzalez,L.E., R.O.,Canizares & S.,Baena. 1997. Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. Bioresource Technol, 60: 259-262.

Kawasaki,L.Y., et al .1982. Aquaculture approaches to recycling of dissolved nutrients in secondarily treated domestic wastewater. Nutrient uptake and release by artificial food chains. Water Res, 16: 37- 49.

Lavens,P. , P.,Sorgeloos. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical., 295pp.

www.SID.ir

Archive of SID

Martin,C., J.,De la Noue and G.,Picard. 1985. Intensive cultivation of freshwater microalgae on aereated pig manure. Biomass, 7: 254-259.

Martinez,M.E., et al. 2000. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalgae *Scenedesmus obliqus*. Bioresoure Technol, 73: 263-272.

Nichols,H.W. 1973. Growth media – freshwater. In: Stein, J.R. (Ed.), Handbook of Phycological Methods – Culture Methods and Growth Measurements. Cambridge University Press, Cambridge, p. 7–24.

Omori,M. , T.,Ikeda. 1984. Methods in marine zooplankton ecology. John Wiley and Sons Inc, New York., 332pp.

Oswald,W.J. 1978. Engineering aspects of microalgae. In: Handbook of Microbiology, Vol. 2. CRC Press, Coca Ratand, p. 519-552.

Oswald,W.J. 1988. Micro-algae and wastewater treatment. In Microalgal Biotechnology, eds. M.A. Borowitzka and L. J. Borowitzka. Cambridge University Press, p. 691-707.

Parsons,T.R., Y.,Maita and C.M.,Lalli. 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Oxford.173pp.

Singh,N.K. , D.W.,Dhar. 2007. Nitrogen and phosphorous scavenging potential in microalgae. Indian. J. Biotech, 6: 52-56.

SPSS, 2002. Statistical Package of Social Science, Version, 11.5. Chicago, IL, USA.

Talbot,P. , J., De la Noue. 1993. Tertiary treatment of wastewater with *Phormidium bonheri* (Schmidle) under various light and temperature conditions. Water Res. 27: 153-159.

Tam,N.F.Y. , Y.S.,Wong. 1989. Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp. Environ. Pollut, 58: 19-34.

Voltolina,D., H.,Gmez-Villa and G.,Correa. 2004. Biomass production and nutrient removal in semicontinuous cultures of *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae) in artificial wastewater, under a simulated day-night cycle. Vie Milieu, 54: 21-25.

Yalcin,T., M.,Naz and M.,Turkmen. 2006. Utilization of different nitrogen sources by cultures of *Scenedesmus acuminatus*. Turk. J. Fish. Aquat. Sci, 6: 123-127.

Zar,J.H., 1984. Bioststistical analysis, 2nd edition. Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, New York, USA, 718 p.

www.SID.ir

Archive of SID

Zhang,E. , et al .2008. Ammonia-nitrogen and orthophosphate removal by immobilized *Scenedesmus* sp. isolated from municipal wastewater for potential use in tertiary treatment. Bioresoure Technol, 99: 3787-93.

www.SID.ir