بررسی سینیتیک جذب آنیون نیترات توسط جلبک میکروسکوپی *Chlorella vulgaris* در اکوسیستم های آبی

حبیب مهرپویا[۱]، محمد امین حجازی[۲]، ناصر علی‌اصغر زاده [۱] و ابوالقاسم محمدی [۱]

۱- دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز.

۲- پژوهشکده بیوتکنولوژی منطقه شمالغرب

aminhejazi@yahoo.com و hmpooya47@yahoo.com

مقدمه

مصرف بیرویه کودهای شیمیایی در کشاورزی امروز موجب بروز آلودگی های اکولوژیکی در محیط شده و در این میان مصرف بیش از حد کودهای نیتراته و خاصیت آبشویی شدید آنها در خاک موجب ورود آنیون نیترات به جریان آبهای سطحی و زیرزمینی میشود که بررسی های انجام یافته در آبهای زیرزمینی دشتهای با کاربری زراعی نشانگر افزایش آنیون نیترات به مقادیر بالاتر از حد استاندارد برای مصارف شرب و سایر استفاده ها از منابع آب آن مناطق میباشد. در حال حاضر مقدار استاندارد آنیون نیترات برای آب شرب در ایران ۵۰ mg / l و در ایالات متحده آمریکا ۴۴ mg / l و در اروپا ۲۵ mg /l تعریف شده که بررسی آمار کیفیت آبهای زیرزمینی دشت های تحت کشاورزی استان آذربایجانشرقی بیانگر مقادیر غیر مجاز آنیون نیترات در آنها میباشد که با توجه به تامین آب شرب اغلب مناطق مسکونی از منابع آبهای زیرزمینی وجود مقادیر زیاد این آنیون موجب به مخاطره افتادن سلامتی جوامع انسانی میگردد. همچنین ورود آنیون نیترات به آبهای سطحی از طریق زه آبهای کشاورزی و الحاق جریانات سطحی به مخازن سدهای احداث شده موجب بروز پدیده غنی شدن آبها از مواد غذایی شده و متعاقب آن جمعیت میکروارگانیسم های مختلف در مخازن سدها بالا رفته و خود میکروارگانیسم ها یا متابولیت های تولیدی آنها موجب آلودگی آب ها از نظر فیزیکی و شیمیایی و بیولوژیکی میشود. لذا کنترل زه آبها و تخلیه آلودگیهای شیمیایی و فیزیکی آنها یکی از چالشهای پیش روی جوامع امروز میباشد و از آنجاییکه روشهای فیزیکی و شیمیایی تصفیه فاضلابهای کشاورزی و صنعتی و خانگی هزینه زیادی داشته و پسماندهای حجیم چنین تصفیه خانه هایی معضل دیگری بر معضلات محیط زیست می افزاید از اینرو بکارگیری روشهای کم هزینه و با حداقل پسماند یا با پسماند قابل استفاده در سایر بخشها میتواند گزینه خوبی باشد که در این میان روشهای تصفیه بیولوژیکی *Bioremidiation* گزینه مناسبی میباشند.

مواد و روشها

این تحقیق در پژوهشکده بیو تکنولوژی منطقه شمالغرب با همکاری گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز بانجام رسیده است. در این تحقیق برای بررسی سینیتیک جذب نیترات در اکوسیستم های آبی توسط جلبک میکروسکوپی *Chlorella vulgaris* از روش کشت غیر مداوم Batch culture استفاده شده و برای اینکار ۲۵۰ ml از محیط کشت مناسب این جلبک(ASW: 500 mg $NaCl$, 40 mg $CaCl_2$, 50 mg $MgSO_4$ per 1 Litre distilled water and 1 ml l^{-1} Trace element : 1.2656 gr Na_2EDTA , 0.25 gr $FeSO_4 .7H_2O$, 286 mg H_3BO_3 , 130 mg $MnSO_4 .4H_2O$, 320 mg $ZnSO_4 .7H_2O$, 183 mg $CuSO_4 .5H_2O$, 2.1 mg Na_2MoO_4 , 2.1 mg $CoCl_2 .6H_2O$ per 100 ml distilled water)در pH=6.5 و با غلظت های متفاوت نیترات در ۵ سطح $mg\ l^{-1}$ ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ ، ۱۲۵ ، ۱۵۰ در ارلن های ۵۰۰ ml تهیه و در شیکر انکوباتور با دمای ۲۴ درجه سانتیگرادو با دور ۱۵۰ rpm و با شدت نور فلوروسنت حدود ۱۰۰ μ mol f cm^{-2} در ۲۴ ساعت در شرایط استریل قرار داده شد و در یک دوره ۷ روزه در سیکل های ۲۴ ساعته از محیط کشت حاوی جلبک نمونه برداری شد و پارامترهای مختلف از قبیل *EC* , *pH* ، *باقیمانده نیترات و رشد جلبک بر اساس* $OD_{550\ nm}$ اندازه گیری شدند. برای اندازه گیری نیترات باقیمانده از روش UV $_{220\ nm}$ استفاده شد(۴) در این روش ۵ ml از نمونه حاوی جلبک را ابتدا از فیلتر غشایی ۰/۴۵ µm عبور داده و بعد از آماده کردن نمونه بر اساس پروتکل میزان نیترات باقیمانده در محیط کشت را در حضور

شاهد بدون نیترات محیط کشت در طول موج ۲۲۰ nm قرائت کرده وبا استفاده از منحی استاندارد تهیه شده مقادیر غلظت نیترات را در محیط محاسبه مینماییم. این تحقیق در ۳ تکرار مجزا به صورت فاکتوریل و با طرح پایه بلوکهای تصادفی انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده نشانگر حذف آنیون نیترات از محیط به پایینتر از $24\ mg\ L^{-1}$ (پایینترین حد استاندارد) در کل تیمارهابود. بررسی سینتیک جذب نشان داد که با افزایش غلظت نیترات نرخ جذب نیز افزایش یافته و با ۳ برابر شدن غلظت نیترات ثابت معادله (α)به حدود ۳ برابر افزایش یافت(جدول شماره ۱). اندازه گیری pH در نمونه ها نشاندهنده افزایش pH به مقادیر بالاتر (pH= 9.5) از pH مناسب رشد جلبک در همه تیمارها بود. مدت زمان لازم برای حذف نیترات تحت شرایط اعمال شده در این آزمایش حدود ۷ روز بود.از آنجاییکه شرایط کشت غیر مداوم بوده و تحت این شرایط فقط نور ودما کنترل گردیدو میزان هوادهی و pH غیر قابل کنترل بود لذا پیش بینی می شود تحت شرایط کنترل شده از نظر pH و هوادهی که مقدار کربن مصرفی جلبک را تامین میکند به نرخ جذب بالاتری از نیترات توسط این گونه جلبک دست یافت. مراحل بعدی این تحقیق در بیوراکتور در حال اجرا است و نتایج بدست آمده در کنگره ارائه خواهد شد.

جدول ۱- ضرایب معادلات خطی(زمان=X و نیترات باقیمانده=Y)

تیمار نیترات	α= constant	β= slop	R^2
50 $mg\ L^{-1}$	49.31	-.375**	.931
75 mg L	73.261	-.454**	.998
100 mg L	93.293	-.512**	.994
125 mg L	123.238	-.606**	.994
150 $mg\ L^{-1}$	149.242	-.591**	.986

منابع

[1] Qiang Hu & Milton Sommerfeld (March 1,2003 to February 28,2004). Selection of High Performance Microalgae for Bioremediation of Nitrate Contaminated Grandwater. Technical Report for Grant Number 01-HO-GR-0113. School of Life Sciences Arizona State University.

[2] Green F.Bailey , L.S.Bernstone, T.J.Lunquist and W.J.Oswald.(1996) Advanced integrated wastewater pond system for nitrogen removal. L.Wat. S-ci.Lech. Vol. 33 No. 7 pp. 207-217.

[3] Greev.F.B, T.J.Lundqiust, N.W.T.Quinn, M.A.Zarate, I.X.Zubieta and W.J.Oswald. (2003).Selenium and nitrate removal from agricultural drainage using the AIWPS ® technology.Waterscince and Technology Vol.48,No. 2, pp.299-305© IWA publishing and the authors.

[4] Standard Methods for the Examination of water and Wastwater. 14h EDITION. 1975 American public heath Association.

[5] Qiang Hu, Paul Westerhpff and Win Vermaas.(1999). Removal of nitrate from grandwater by cyanobacterria: Quantitative assessment of factors influencing nitrate uptake. Applied and Environmental Microbiology, Jan. 2000, p. 133-139.