بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده منابع طبیعی

بهینه سازی جذب زیستی مالاشیت گرین از محلول های آبی توسط ریزجلبک های سبز *Scenedesmus quadricauda* و *Chlorella vulgaris*

پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات

مسعود کوشا

اساتید راهنما

دکتر امیدوار فرهادیان

دکتر سالار درافشان

۱۳۹۰

تشکر و قدردانی

حمد و سپاس یزدان بلند مرتبه را به جهت الطاف بی منتهایش، که توانسته‌ام در راه علم و معرفت گامی دیگربرداشته و مسیر زندگی را با آگاهی و بینش وسیع‌تری طی نمایم.

از جناب آقایان دکترامیدوار فرهادیان و دکتر سالار درافشان، هیئت علمی محترم گروه شیلات دانشگاه صنعتی اصفهان که در کلیه مراحل انجام این پروژه با راهنمایی های علمی و عملی بنده را حمایت نمودند، سپاسگزاری می نمایم. از جناب آقای دکتر محبوبی صوفیانی مشاور محترم پایان‌نامه و ریاست محترم دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان به خاطر مساعدت های راهگشایشان کمال تشکر را دارم.

ازکارشناسان محترم آزمایشگاه سرکار خانم مهندس رجایی و آقایان مهندس متقی و مهندس مختاری برای همکاری در امور آزمایشگاهی تشکر می نمایم.

در پایان از تمامی عزیزانی که در انجام و تکمیل این پایان نامه از همکاری و دلگرمی‌شان برخوردار بودم کمال تشکر را دارم.

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،

ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع

این پایان نامه متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم به

دو عزیز زندگیم که فقدان هر یک ضربه ای سخت بر پیکر انسان در حیات خویش خواهد بود.

پدرم و مادرم

آنان که ناتوان شدند تا به توانایی برسم و عاشقانه سوختند تا گرما بخش وجود و روشنگر راهم باشند...

فهرست مطالب

عنوان | صفحه

فهرست مطالب ..... هشت

فهرست اشکال ..... یازده

فهرست جداول ..... دوازده

چکیده ۱

فصل اول: مقدمه ۲

فصل دوم: بررسی منابع ۵

۲-۱- مالاشیت گرین ۵

۲-۲- ریزجلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* ۹

۲-۳- ریز جلبک سبز *Chlorella vulgaris* ۱۰

۲-۴- جذب زیستی ترکیبات آلی خطرناک ۱۲

۲-۴-۱- مکانیسم جذب زیستی ۱۲

۲-۴-۲- تاثیر پیش تیمار جاذب های زیستی بر راندمان و ظرفیت جذب زیستی ۱۵

۲-۴-۳- تاثیر pH اولیه محلول بر راندمان و ظرفیت جذب زیستی ۱۶

۲-۴-۴- تاثیر درجه حرارت بر راندمان و ظرفیت جذب زیستی ۱۸

۲-۴-۵- تاثیر غلظت اولیه رنگ بر راندمان و ظرفیت جذب زیستی ۱۸

۲-۴-۶- تاثیر نمک ها بر راندمان و ظرفیت جذب زیستی ۱۹

۲-۴-۷- تاثیر یون های فلز سنگین بر راندمان و ظرفیت جذب زیستی ۱۹

۲-۴-۸- تاثیر رنگ های مزاحم بر راندمان و ظرفیت جذب زیستی ۲۰

۲-۴-۹- تاثیر سورفاکتانت ها بر راندمان و ظرفیت جذب زیستی ۲۰

۲-۴-۱۰- احیاء جاذب زیستی ۲۰

۲-۴-۱۱- نقش لیگاندهای داخل سلولی بر راندمان و ظرفیت جذب زیستی ۲۱

۲-۵- مروری بر مطالعات انجام شده ۲۲

فصل سوم: مواد و روش ۲۶

۳-۱- مواد شیمیایی مورداستفاده ۲۶

۳-۲- کشت و پرورش جلبک ۲۶

۳-۳- ضدعفونی ظروف و وسایل آزمایش ۲۷

۳-۴-آماده سازی نهایی بیومس جلبکی برای آزمایشات جذب زیستی ۲۷

۳-۵- طرح آماری رویه های پاسخ برای آزمایشات جذب زیستی ۲۸

۳-۶- نحوه انجام آزمایشات جذب زیستی ۳۰

۳-۷- مدلسازی سینتیکی جذب زیستی مالاشیت گرین ۳۱

۳-۸- تجزیه و تحلیل طیف نورسنجی مادون قرمز (FT-IR) ۳۲

فصل چهارم: نتایج و بحث ۳۳

۴-۱-نتایج ۳۳

۴-۱-۱- تایید صحت مدل باکس- بنکن برای جذب زیستی مالاشیت گرین ۳۳

۴-۱-۲- تاثیر غلظت اولیه مالاشیت گرین بر راندمان جذب مالاشیت گرین ۴۱

۴-۱-۳ - تاثیر مقدار pH اولیه محلول بر راندمان جذب مالاشیت گرین ۴۴

۴-۱-۴- تاثیر مقدار بیومس جلبکی بر راندمان جذب مالاشیت گرین ۴۵

۴-۱-۵- تاثیر زمان انجام آزمایش بر راندمان جذب مالاشیت گرین ۴۸

۴-۱-۶- تاثیر همزمان چهار متغیر اصلی فرآیند جذب بر راندمان جذب مالاشیت گرین ۴۸

۴-۱-۷-بهینه سازی فرآیند جذب زیستی مالاشیت گرین ۴۹

۴-۱-۸-مدلسازی سینتیک جذب زیستی مالاشیت گرین ۵۱

۴-۱-۹- تجزیه و تحلیل طیف FT-IR ۵۳

۴-۲-بحث ۵۶

۴-۲-۱- تاثیر غلظت اولیه مالاشیت گرین بر راندمان جذب مالاشیت گرین ۵۶

۴-۲-۲- تاثیر pH اولیه محلول بر راندمان جذب مالاشیت گرین ۵۸

۴-۲-۳- تاثیر مقدار بیومس جلبک بر راندمان جذب مالاشیت گرین ۶۱

۴-۲-۴- تاثیر زمان انجام آزمایش بر راندمان جذب مالاشیت گرین ۶۳
۴-۲-۵- سینتیک جذب مالاشیت گرین ۶۵
فصل پنجم: نتیجه گیری و پیشنهادها ۶۷
۵-۱- نتیجه گیری ۶۷
۵-۲- پیشنهادها ۶۸
منابع ۶۹

فهرست اشکال

عنوان | صفحه

شکل ۲- ۱- ریز جلبک سبز گونه *S. quadricauda*..... ۱۰

شکل ۲- ۲- ریز جلبک سبز گونه *C. vulgaris*..... ۱۱

شکل ٤- ۱- خطای استاندارد طرح برای اثر متقابل غلظت اولیه مالاشیت گرین و pH محلول اولیه (مقدار بیومس جلبک و زمان آزمایش در سطح صفر). ۳۵

شکل ٤- ۲- رابطه بین راندمان جذب تخمینی (درصد) و راندمان جذب واقعی (درصد) برای راندمان جذب مالاشیت گرین توسط ریز جلبک سبز *S. quadricauda* (الف) و ریز جلبک سبز *C. vulgaris* (ب). ۳۷

شکل ٤- ۳- مقدار احتمال نرمال (درصد) نسبت به باقی مانده استیودنت داخلی برای راندمان جذب مالاشیت گرین توسط ریز جلبک سبز *S. quadricauda* (الف) و ریز جلبک سبز *C. vulgaris* (ب). ۳۷

شکل ٤-٤- تاثیر متغیرهای اصلی فرآیند بر راندمان جذب مالاشیت گرین توسط توسط ریز جلبک سبز *S. quadricauda*؛ غلظت اولیه (الف)، pH محلول (ب)، بیومس جلبک (ج) و زمان آزمایش (د). ٤۲

شکل ٤- ۵- تاثیر متغیرهای اصلی فرآیند بر راندمان جذب مالاشیت گرین توسط توسط ریز جلبک سبز *C. vulgaris*؛ غلظت اولیه (الف)، pH محلول (ب)، بیومس جلبک (ج) و زمان آزمایش (د). ٤۳

شکل ٤- ٦- اثرات متقابل متغیرهای فرآیند به صورت منحنی کانتر بر راندمان جذب مالاشیت گرین (درصد) توسط ریز جلبک سبز *S. quadricauda*؛ غلظت اولیه و pH (الف)، غلظت اولیه و بیومس جلبک (ب)، غلظت اولیه و زمان آزمایش (ج)، pH و بیومس جلبک (د)، pH و زمان آزمایش (ن) و بیومس جلبک و زمان آزمایش (و). ٤٦

شکل ٤- ۷- اثرات متقابل متغیرهای فرآیند به صورت منحنی کانتر بر راندمان جذب مالاشیت گرین (درصد) توسط ریز جلبک سبز *C. vulgaris*؛ غلظت اولیه و pH (الف)، غلظت اولیه و بیومس جلبک (ب)، غلظت اولیه و زمان آزمایش (ج)، pH و بیومس جلبک (د)، pH و زمان آزمایش (ن) و بیومس جلبک و زمان آزمایش (و). ٤۷

شکل ٤- ۸- تاثیر همزمان چهار متغیر اصلی فرآیند بر راندمان جذب مالاشیت گرین توسط ریز جلبک سبز *S. quadricauda* (الف) و ریز جلبک سبز *C. vulgaris* (ب). ۵۰

شکل ٤- ۹- سینتیک جذب زیستی مالاشیت گرین توسط ریز جلبک سبز *S. quadricauda* (الف) و ریز جلبک سبز *C. vulgaris* (ب). ۵۲

شکل ٤- ۱۰- طیف نورسنجی مادون قرمز (FT-IR) برای *S. quadricauda* (الف)، *C. vulgaris* (ب)، *S. quadricauda* با مالاشیت گرین جذب شده (ج) و *C. vulgaris* با مالاشیت گرین جذب شده (د). ۵۵

فهرست جداول

عنوان | صفحه

جدول ۲- ۱- خصوصیات کلی مالاشیت گرین استفاده شده در این مطالعه..... ٦

جدول ۳- ۱- فرمولاسیون محیط کشت BBM..... ۳۰

جدول ۳- ۲- متغیرهای اصلی فرآیند جذب زیستی مالاشیت گرین به همراه دامنه و سطوح آنها..... ۳۲

جدول ٤- ۱- طرح آزمایشات جذب زیستی مالاشیت گرین و مقدار راندمان های واقعی و پیش بینی شده به دست آمده توسط ریزجلبک های سبز *S. quadricauda* و *C. vulgaris* در روش باکس- بنکن. ۳٤

جدول ٤- ۲- تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) برای جذب مالاشیت گرین توسط ریزجلبک های سبز *S. quadricauda* و *C. vulgaris*. ۳٦

جدول ٤- ۳- نتایج تجزیه وتحلیل معادله رگرسیون برای جذب مالاشیت گرین توسط ریزجلبک های سبز *S. quadricauda* و *C. vulgaris*. ۳۹

جدول ٤- ٤- نتایج تخمین ضرایب برای معادله رگرسیون راندمان جذب مالاشیت گرین توسط ریزجلبک های سبز *S. quadricauda* و *C. vulgaris*. ٤۰

جدول ٤- ٥- بهترین سطوح متغیرهای فرآیند و بیشینه راندمان جذب مالاشیت گرین توسط ریزجلبک های سبز *S. quadricauda* و *C. vulgaris*. ٥۱

جدول ٤- ٦- پارامترهای سینتیکی به دست آمده از مدل های شبه درجه اول، شبه درجه دوم و انتشار داخل ذره ای برای جذب مالاشیت گرین توسط ریزجلبک های سبز *S. quadricauda* و *C. vulgaris*. ٥۳

چکیده

در مطالعه حاضر، از ریز جلبک های سبز *Scenedesmus quadricauda* و *Chlorella vulgaris* برای بهینه سازی شرایط برای جذب زیستی مالاشیت گرین بوسیله طرح آزمایش رویه های پاسخ استفاده شد. در این آزمایشات تاثیر همزمان چهار فاکتور اصلی غلظت اولیه مالاشیت گرین (۲، ٦ و ۱۰ میلی گرم بر لیتر)، pH اولیه محلول حاوی مالاشیت گرین (۳، ۴/۵ و ۶)، وزن بیوماس جلبک ها (۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر لیتر) ومدت زمان انجام آزمایش (۱۰، ۵۰ و ۹۰ دقیقه) بر روی راندمان حذف مالاشیت گرین با استفاده از روش باکس- بنکن مورد ارزیابی قرار گرفت.آنالیز واریانس داده های آزمایش طرح رویه های پاسخ برای اعتبارسنجی مدل پیشنهادی انجام گرفت. براین اساس، معادله های چندمتغیره مرتبه دوم و مدل های درجه دوم برای تعیین رابطه بین راندمان حذف مالاشیت گرین و چهار فاکتور موثر مستقل ارائه گردید. معادلات رگرسیون به دست آمده پس از آنالیز واریانس داده ها، مقادیر ضریب همبستگی بالای ۰/۹۹۱۸ و ۰/۹۹۳۶ را به ترتیب برای مدل های مرتبه دوم پیشنهادی برروی راندمان حذف مالاشیت گرین توسط *S. quadricauda* و *C. vulgaris* نشان دادند. مقادیر بی معنی آماره LoF به ترتیب ۰/۶۷۴۴ و ۰/۷۱۷۷ برای *S. quadricauda* و *C. vulgaris* (۰/۰۵>) و مقادیر معنی دار P-value (۰/۰۰۰۱>) نشان دهنده اعتبار مدل است. مقدار حداقل خطای استاندارد طرح به میزان ۰/٤۲ در اطرف نقطه مرکزی آزمایش نشان داد که مدل پیشنهادی به خوبی می تواند داده های آزمایش نسبت به شیوه طرح آزمایش را تحلیل و توصیف کند. به طورکلی، ضریب همبستگی بالا (۰/۹۹>)، مقدار P-value معنی دار (۰/۰۰۰۱>)، مقدار آماره LoF بی معنی (۰/۰۵>) و حداقل خطای استاندارد طرح، نشاندهنده دقت بالا و اعتبار مدل پیشنهادی به منظور پیش بینی راندمان حذف مالاشیت گرین توسط *S. quadricauda* و *C. vulgaris* از محلول های آبی هستند. از اینرو، این مدل به منظور آنالیزهای بعدی مورد استفاده قرار گرفت. براین اساس برای هردو جاذب، راندمان حذف مالاشیت گرین همواره با کاهش غلظت اولیه مالاشیت گرین از ۱۰ به ۲ میلی گرم بر لیتر، افزایش pH اولیه محلول حاوی مالاشیت گرین از۳ به ۶، وزن بیوماس جلبک ها به صورت تقریبی از ۴۰ تا ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر ومدت زمان انجام آزمایش از۱۰ تا ۹۰ دقیقه افزایش نشان داد. در شرایط آزمایشی بهینه شده، حداکثر راندمان حذف مالاشیت گرین توسط ریز جلبک های سبز *S. quadricauda* و *C. vulgaris* به ترتیب ۷٦/۲۳ و ۹۱/۳۲ درصد تعیین شدند. این نتایج به روشنی نشان دهنده توانایی بیشتر *C. vulgaris* نسبت *S. quadricauda* برای حذف مالاشیت گرین از محلول های آبی است. در شرایط بهینه، مدل های سینتیک مختلفی همچون معادله شبه درجه اول، شبه درجه دوم و داخل ذره ای به عنوان مدل های رایج جهت تعیین چگونگی انجام واکنش در سطح جلبک ها استفاده شدند، که مدل شبه درجه دوم بهترین تناسب را با داده های آزمایش نشان داد (۰/۹۹>). روش اسپکتروسکوپی مادون قرمز برای فراهم آوردن اطلاعاتی درباره طبیعت واکنش انجام شده بین گروه های عاملی موجود درسطح دیواره سلولی گونه های جلبکی مورد آزمایش با یون های مالاشیت گرین انجام گردید. این مشاهدات نشان داد که چندین گروه عاملی خصوصا گروه های کربوکسیل، هیدروکسیل و آمین در سطح بیومس های جلبکی مسئول اتصال یونهای مالاشیت گرین به سطح جلبک ها در فرآیند جذب زیستی هستند. علاوه براین، تفاوت راندمان های حذف مالاشیت گرین توسط بیومس های جلبکی می تواند ناشی از تفاوت در برخوردهای رخداده بین مولکول های رنگی و بیومس های جلبکی باشد. نتایج این آزمایشات نشان می دهند که بیومس های جلبکی به کار رفته در این تحقیق، به عنوان مواد زیستی مناسب ودر عین حال ارزانقیمت و دردسترس برای حذف مالاشیت گرین از محلول های آبی می تواند مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: جذب زیستی، *Scenedesmus quadricauda*، *Chlorella vulgaris*، رویه های پاسخ، مالاشیت گرین

فصل اول

مقدمه

در آینده ای نه چندان دور باید هزینه های سرسام آوری به منظور جبران صدمات ناشی از فعالیت های صنعتی و پیشرفت های تکنولوژیکی پرداخت شود [۵۷]. امروزه رنگ ها، کاربردها و نقش های مختلفی در بسیاری از صنایع دارند [۲۹]. اما با این وجود، بسیاری از آنها برای انسانها و سایر جانوران دارای اثرات سرطانزایی و جهش زایی هستند [۲۱].

یکی از این مواد مالاشیت گرین[1] بوده که به عنوان یک ترکیب رنگی با ساختار شیمیایی تری فنیل متان، به طورگسترده ای بر علیه انگل های خارجی، قارچ ها و باکتری ها در صنعت تکثیر و پرورش ماهیان و سخت پوستان مورد استفاده قرار گرفته است. هم چنین از آن در صنایع رنگی برای رنگ آمیزی موادی چون ابریشم، پشم، کنف، چرم و کاغذ استفاده می شود. گرچه مالاشیت گرین به طور موثری عفونت های ناشی از باکتری، قارچ، پروتوزوآ[2]، سستود[3]، نماتود[4]، ترماتود[5] و سخت پوستان[6] را در آبزی پروری کنترل می کند. اما دارای آثار سمی بوده و موجب بروز تومور در کبد پستانداران می شود [۱۱۴]. علاوه براین، تحقیقات نشان داده است که مالاشیت گرین باعث گلیکوژنولایزیز عضلانی، سنتز پروتئین های جفتی، آسیب شدید آبشش ها و تغییرات فسادی در ماهیان می شود. مالاشیت گرین به همراه فرم کاهش یافته خود یعنی لوکومالاشیت گرین در بافت های خوراکی ماهیان برای مدت طولانی باقی می ماند [۸۲]. بنابراین مصرف مقادیر بیش از حد مجاز مالاشیت گرین به خاطر آثار مخرب

[1] Malachite green
[2] Protozoa
[3] Cestode
[4] Nematod
[5] Trematod
[6] Crustacea

زیست محیطی و تهدید سلامتی پستانداران و انسانها حائز اهمیت بوده و نیاز به توجه ویژه برای رفع این مشکل دارد [۱۰۳]. تاکنون چندین روش فیزیکوشیمیایی معمول چون ته نشینی شیمیایی[۱]، عصاره گیری حلال[۲]، رزین تبادل یونی[۳] ، جداسازی غشایی[٤]، ازناسیون[٥] ، فتواکسیداسیون[٦]، انعقاد الکتریکی[۷]، شناورسازی کف[۸]، اسمزمعکوس[۹]، تعویض یونی[۱۰] و لخته سازی[۱۱] به منظور حذف مالاشیت گرین و سایر ترکیبات آلی مضر از پساب ها به کاررفته است [۷۳].

براساس ساختار مولکولی و کمپلکس آروماتیکی رنگ ها، به طورکلی رنگ ها به نور، فعالیت های بیولوژیکی، عوامل اکساینده و سایر شرایط زیست محیطی تجزیه ای مقاوم هستند [٤٦، ۹۳]. از این رو سیستم های تصفیه بیولوژیکی مرسوم در تصفیه پساب های شامل رنگ ها ناکارآمد هستند. از طرف دیگر، این روش ها دارای معایبی چون حذف ناقص مالاشیت گرین، تجهیزات گرانقیمت و نیاز به سیستم نظارت، نیاز به انرژی و مصرف بالای مواد شیمیایی و تولید لجن سمی هستند [۴۲].

استفاده از فرآیندهای زیستی در تصفیه پسابهای آلوده و غنی از آلاینده ضمن رفع مشکلات و تکمیل روش های فیزیکی و شیمیایی معمول، ابزاری اقتصادی و کم هزینه برای تصفیه پسابهای آلوده را فراهم می آورد. امروزه یک توجه ویژه به استفاده از انواع مختلف بیومس های ارزان برای حذف آلاینده های معدنی و آلی از پسابها پدید آمده است [۹، ۷۵]. در سال های اخیر مطالعاتی بر روی میکروارگانیسم ها از جمله باکتری، قارچ و جلبک های میکروسکوپی و ماکروسکوپی انجام شده است [۱۰، ۳۰، ۵۷، ۷۳]. اما جلبک ها به لحاظ پتانسیل بالای آنها در حفاظت محیط زیست مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته اند [۱۱۷]. جاذب های جلبکی به خاطر ساختار سلولزی دیواره سلولی دارای مکان های اتصال کربوکسیلی و هیدروکسیلی بیشتری هستند [۱۲۰].

جلبک ها، ارگانیسم های فتوسنتزکننده ای هستند که تقریبا در تمام نقاط جهان و در تمام انواع زیستگاه ها وجود دارند [۱۴]. آنها توانایی تجزیه و حذف ترکیبات شیمیایی مختلفی را دارند، اما میزان این توانایی وابسته به ساختار شیمیایی ترکیب و نوع گونه جلبکی هستند [۶۷، ۸۱].

جلبک های سبز سندسموس و کلرلا به علت فراوانی در آبهای ایران، رشد سریع، تحمل بالای شرایط سخت طبیعی و پرورشی و سطح زیاد به ازای واحد وزن به منظور جذب رنگ انتخاب گردیدند. هم چنین در

---

[1] Chemical precipitation
[2] Solvent extraction
[3] Ion exchange
[4] Membrane isolation
[5] Ozonation
[6] Photooxidation
[7] Electrocoagulation
[8] Froth flotation
[9] Reverse Osmosis
[10] Ion exchange
[11] Flocculation

کشور ما با توجه به رشد روزافزون مراکز صنعتی و کشاورزی مختلف و همچنین باتوجه به داشتن منابع متنوع و غنی از جلبک ها در منابع آبی داخلی و دریایی لزوم انجام چنین مطالعاتی ضروری به نظر می رسد.

۱-۱- اهداف تحقیق

۱) بررسی تاثیر غلظت اولیه مالاشیت گرین، pH اولیه محلول، مقادیر بیومس جلبک و زمان های انجام آزمایش بر راندمان جذب زیستی مالاشیت گرین توسط ریز جلبک سبز *S. quadricauda* با استفاده از طرح رویه های پاسخ وتعیین شرایط بهینه برای حذف آن.

۲) بررسی تاثیر غلظت اولیه مالاشیت گرین، pH اولیه محلول، مقادیر بیومس جلبک و زمان های انجام آزمایش بر راندمان جذب زیستی مالاشیت گرین توسط ریز جلبک سبز *C. vulgaris* با استفاده از طرح رویه های پاسخ وتعیین شرایط بهینه برای حذف آن.

۳) بررسی سینتیک واکنش جذب زیستی مالاشیت گرین توسط ریز جلبک های سبز *S. quadricauda* و *C. vulgaris* در شرایط بهینه تعیین شده با استفاده از مدل های ریاضی.

فصل دوم

بررسی منابع

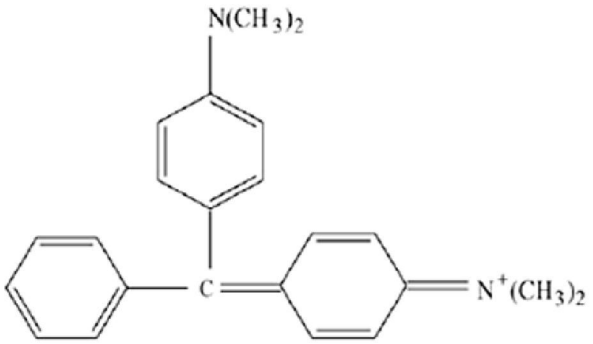
۲-۱- مالاشیت گرین

مالاشیت گرین، تری فنیل متان[1] یا سبز بازی ۴ ($C_{23}H_{26}N_2O$)، یک ماده کریستالی جامد به رنگ سبز تیره است. مالاشیت گرین از متراکم سازی بنزآلدهید با دی متیل آنیلین در حضور کاتالیزور اسید سولفوریک غلیظ یا کلرید روی حاصل می شود. مالاشیت گرین در اشکال مختلفی وجود دارد. که دو شکل مهم و معروف آن نمک اگزالات و هیدروکلرید است (جدول ۲-۱). این رنگ همانند سایر رنگ های تری فنیل متان دارای دو فرم یونی نمک رنگی و باز کاذب هستند. مالاشیت گرین در فرم باز کاذب به خاطر انحلال پذیری بالا می تواند وارد سلول های جانداران شود [۷]. ثابت یونی مالاشیت گرین (pK_a) ۶/۹۰ است. این ترکیب در pH های۴، ۶/۹۰، ۷/۴، ۱۰/۱ به ترتیب دارای ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و صفر درصد از فرم یونی خود در محلول هستند [۵۲].

در حیوانات مالاشیت گرین از طریق تغییر شکل زیستی[2] خود به فرم بی رنگ کاهش یافته و سپس در بافتها برای مدت طولانی باقی می ماند [۱۰۴]. لوکومالاشیت گرین از نظر ساختاری شبیه آمین های آروماتیک کلاسیک است. همچنین، این ترکیب به عنوان پیش ماده در تهیه رنگ مورد استفاده قرار می گیرد و می تواند نقش آلایندگی در رنگ های تجاری داشته باشد [۱۱۴].

[1] Triphenyl methane
[2] Biotransformation

جدول ۲- ۱- خصوصیات کلی مالاشیت گرین استفاده شده در این مطالعه [۱۱۴].

ساختار شیمیایی	
شماره رنگ	٤٢٠٠٠
نام رنگ	سبز بازی ٤
نوع رنگ	تری آریل متان
نوع یونیزاسیون	بازی
جرم مولکولی (گرم بر مول)	۹۲۷/۰۲
طول موج بیشینه (نانومتر)	٦١٨

مالاشیت گرین به طور گسترده به عنوان یک قارچ کش قوی به منظور حذف انگل های خارجی در مزارع پرورش ماهی از سال ۱۹۳۶ تاکنون مورد استفاده قرار گرفته است. امروزه در آبزی پروری، برای نابودی باکتری، قارچ، پروتوزوآ، سستود، ترماتود، نماتود، سخت پوستان مورد استفاده قرار می گیرد [۸۳].

مالاشیت گرین به طور وسیعی برای جلوگیری و درمان ماهی و تخم ماهی از عفونت های ناشی از قارچ اوومایست مورد استفاده قرار می گیرد [۸]. هم چنین مشخص شده است که مالاشیت گرین از بین ۴۹ قارچ کش مورد استفاده برعلیه قارچ اوومایست بیشترین تاثیرگذاری را دارد [۵۸]. هم چنین از رشد جنس *Haliphthoros* sp. بر روی لابستر [۳۵] و Ful-2 بر روی آزاد ماهیان [۶۶] جلوگیری می کند. قارچ ساپرولیگنیا به طور موثر توسط مالاشیت گرین در ماهی آزاد اقیانوس اطلس *Salmo solar* [۱۲۷]، گربه ماهی کانالی *Ictarulus punctatus*[۱۷] و قزل آلای رنگین کمان *Oncorhynchus myksis* [۱۲۱] کنترل شده است. عفونت های *Aphanomyces invadis* [۸۵] و *Aspergillus flavus* [۱۶] درجنس *Channa* sp. توسط این ترکیب کنترل شده است. همچنین تخم کپور معمولی *Cyprinus carpio* و لای ماهی *Tinca tinca* به منظور حذف آلودگی های قارچی به طور موفقیت آمیزی با مالاشیت گرین مورد استفاده قرار گرفت [۸۰]. مالاشیت گرین به طور موثری عفونت های ناشی از پروتوزوا را کنترل می کند [۱۰۹]. عفونت های ایکتیوفتریوس[1] روی گربه ماهی کانالی [۱۱۸]،

[1] Ichthyophthirius

تریکودینا[1] بر روی مارماهی اروپایی *Anguila anguila* [۸۶] و انگل خارجی داینوفلاژلاتا[2] بر روی ماهیان زینتی [۱۱۵] توسط مالاشیت گرین کنترل شده است.

علاوه براین، این ترکیب به طور موفقیت آمیزی در درمان عفونت ناشی از *Dactylogyrus vastator* در کپور معمولی [۹۲] و ماهیان خانواده سیچلیده[3] [۴۵] به کار برده شد. برای مبارزه با گونه *Dermocystidium koi* در پوست کپور معمولی [۱۲۶]، بیماری کلیوی پیشرونده[4] در قزل آلای رنگین کمان [۵۳] و ماهی آزاد اقیانوس اطلس [۱۰۷] و یک نکروز پوستی دربرخی آزاد ماهیان[5] [۹۵] توسط مالاشیت گرین به طور موثری کنترل شد.

مطالعات متعدد بر روی این ترکیب، نشان دهنده فوق‌سمی بودن مالاشیت‌گرین برای ماهیان آب شیرین در شیوه های‌مختلف درمانی است [۱۱۴]. مالاشیت گرین در تیمارهای دارویی ماهیان به صورت های مختلفی مورد استفاده قرار می گیرد. تیمارهای متفاوت دارویی از مقادیر یک میلی گرم بر لیتر در مدت ۶۰–۳۰ دقیقه تا ۵۰ میلی گرم بر لیتر به مدت ۳۰–۱۰ ثانیه را شامل می شود. مقادیر LC_{50} مالاشیت گرین در pH برابر ۷/۵ برای قزل آلای رنگین کمان، قزل آلای قهوه ایو گربه ماهی کانالی به ترتیب ۱/۴، ۱/۷۳ و ۰/۲۳۸ میلی گرم بر لیترگزارش شده است [۲۴]. بنابراین حتی مقادیر اندک استفاده از مالاشیت گرین دارای اثرات زیانبار فراوانی برجوامع آبزیان خصوصا ماهیان می باشد. از اینرو، مالاشیت گرین در کنار مزایای زیاد و توانایی های فراوان در کنترل عفونت های مختلف آبزیان، متاسفانه دارای اثرات منفی زیادی بر جوامع موجودات زنده آبزی، وحتی سایر جانوران خشکی زی و انسانها هستند.

آثار سوء متعددی از قبیل سرطان‌زایی، جهش زایی، شکست کروموزوم، تتراژنی و کاهش درصد لقاح مولدین در قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از استفاده مالاشیت گرین برای کنترل عفونی مشاهده شده است [۶۳]. مطالعات زیادی به بررسی اثر تتراژنی مالاشیت گرین بر روی ماهیان می پردازد. ناهنجاری های مختلف در مراحل رشد تخم، تخریب کروموزوم در قزل آلای رنگین کمان پس از قرار گیری طولانی مدت در معرض مالاشیت گرین به اثبات رسیده است [۲۵]. تغییر شکل کروموزومی در تخم ماهیان آب شیرین تیمار شده با مالاشیت گرین گزارش شده است [۷۴].کاهش شدید درصد بازماندگی در تخم های ۳۸ ساعته که در معرض طولانی مدت مالاشیت گرین بودند، مشاهده شده است [۱۲۵]. همچنین شواهدی مبنی بر تاخیر زمان هچ تخم ها و ناهنجاری در نخاع، سر، باله و دم در لاروهای قزل آلای رنگین کمان تفریخ شده از تخم های تیمارشده با مالاشیت گرین وجود دارد [۹۰]. مالاشیت گرین به صورت یک سم برای آنزیم تنفسی نیز عمل می کند [۱۲۵]. موجب مشکلات شدید تنفسی قزل آلای رنگین کمان[۱۱۰] و تیلاپیای نیل *Oreochromis niloticus* [۱۰۱] گردیده است.

تحقیقات جدید به کشف حقایقی درمورد شناسایی اثرات مالاشیت گرین بر روی بافت های مختلف و پارامترهای بیوشیمیایی خون پرداخته است. مطالعات بافت شناسی نشان داده است که مالاشیت گرین موجب اثرات

---

[1] Trichodina
2 Dinoflagellate
3 Cichlidae
4 Proliferation Kidney Disease
[5] Salmonidae

مخرب متعددی بر کبد، آبشش، کلیه، روده، گناد و سلول های گنادوتروپیک هیپوفیز در مغز ماهیان می شود. همچنین موجب تجمع خونی سینوسی و نکروزهای مرکزی در کبد، آسیب میتوکندری و موجب بروز ناهنجاری و تغییرات در هسته سلول می گردد [۵۱].کاهش تعداد مونوسیت های خون، هماتوکریت و حجم گلبول های خون وافزایش غلظت هموگلبولین گلبولهای قرمز در اثر تیمارهای دارویی با مالاشیت گرین مشاهده شده است [۹۶].

نتایج تحقیقات هم چنین اثرات مضرمالاشیت گرین بر موجودات خشکی زی را به اثبات رسانده است. استفاده مالاشیت گرین دارای اثرات سیتوتوکسیکی[1] بر روی سلول های پستانداران [۴۴] و سرطانزایی بر کبد، تیروئید و سایر اندام ها در جانوران خشکی‌زی است [۱۱۶]. فرم کاهش یافته مالاشیت گرین، لوکومالاشیت گرین، موجب توقف سنتز هورمون های تیروئیدی، کاهش اندازه غده تیروئید، افزایش غلظت تیروکسین خون و بروز تومور در سلول های فولیکولی تیروئید در موش های مورد مطالعه گردیده است [۳۸].

نتیجه مطالعات انجام شده برروی مالاشیت گرین نشان می دهد که این ترکیب یکی از خطرناکترین ترکیبات مورد استفاده در آبزی پروری به خاطر اثرات سوء متعدد آن بر جوامع مصرف کنندگان (اختیاری و اجباری) است. که شامل تاثیرات مختلفی بر سیستم های ایمنی و تولید مثل و نیز اثرات ژنوتوکسیکی[2] و کارسینوژنتیکی[3] است. در آلمان، استفاده از مالاشیت گرین به عنوان داروی حیوانات به خاطر خطرات احتمالی تتراژنیکی[4]، موتاژنیکی[5] و کارسینوژنیکی بر سلامتی انسانها ممنوع شده است [۱۱۴].

با وجود اینکه این ترکیب در برخی کشورها ممنوع شده است. اما در بسیاری از کشورها هم اکنون به علت نبود یک جایگزین مناسب و قدرتمند در کنترل بیماریهای عفونی به طورگسترده مورد استفاده قرار می گیرد. به هرحال توصیه می شود که استفاده از مالاشیت گرین باید فقط به موارد بسیار ضروری، تحت مراقبت های ویژه و در غلظت های ایمن و مجاز محدود شود [۵۴]. علاوه براین باید به دنبال یافتن راهی جهت حذف مقادیر اضافی مالاشیت گرین ضمن خروج از هچری ها و ورود به استخرهای بزرگ پرورشی و پهنه های آبی طبیعی بود. کربن فعال تاکنون توانسته است به خوبی از ورود مقادیر ناخواسته آن به منابع آبی جلوگیری کند و مالاشیت گرین را از آب جداسازی نماید، اما به علت هزینه بالای تهیه آن چندان اقتصادی به نظر نمی رسد [۲]. لذا برای این منظور بایستی از جاذب های ارزانقیمت و دردسترس دیگر برای نیل به این هدف استفاده نمود که در عین ارزان بودن، در دسترس بوده و و از کارآمدی بالایی برخوردار باشند. یکی از انواع این جاذب های ارزانقیمت و فراوان، جلبک های آب شور و شیرین میکروسکوپی و ماکروسکوپی هستند.

[1] Cytotoxic
[2] Genotoxic
[3] Carcinogenetic
[4] Tetragenic
[5] Mutagenic

۲-۲- ریزجلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*

گونه مورد آزمایش *S. quadricauda* متعلق به جنس *Scenedesmus*، خانواده Acenedesmaceae و راسته Chlorochocales از جلبک های سبز Chlorophyta است [۱۸].

گونه *S. quadricauda* از کلونی های ۲، ۴ ویا ۸ سلولی تشکیل یافته که از ناحیه جانبی به یکدیگر متصل شده اند. جسم سلولی دارای ۱۸-۱۱ میکرومتر طول و ۷-۳/۵ میکرومتر عرض است. طول خارهای سلول های انتهایی ۱۷-۱۰ میکرومتر است (شکل۲-۱) [۲۶]. سندسموس یک جلبک سبز کوچک، غیرمتحرک، فاقد تاژک و کلونی دار است که از سلول های کنارهم قرار گرفته در یک ردیف تشکیل یافته است. معمولاً سلول ها استوانه ای هستند، اما می توانند هلالی، بیضی و دوکی شکل نیز باشند. هریک از سلول های انتهایی دارای دو خار بلند بطول ۱۷-۱۰ میکرومتر هستند که از انتهای استوانه سلولی خارج شده اند، علاوه برآن، هر سلول می توانند دارای خارهای اضافی یا موهای زبر[1] بر روی نواحی سطحی باشد [۳۷]. هر سلول حاوی یک کلروپلاست[2] منفرد جداری صفحه ای شکل به همراه یک پیرنوئید[3] منفرد است. پلاستیدها حاوی کلروفیل های a و b هستند که به آنها یک رنگ سبز روشن می دهند [۳۶]. همانند سایر کلروفیت ها، سندسموس دارای دیواره سلولی حاوی سلولز است. سندسموس دارای تولید مثل غیرجنسی بوسیله اتوکونوبیوم[4] است [۱۲۸، ۱۲۹].

خارها و موهای زبر باعث شناوری بیشتر کلونی های جلبکی در آب می شوند و به آنها اجازه می دهند تا نور و مواد مغذی را در نزدیکی سطح جذب کنند، همچنین می توانند مانع شکار شدن بوسیله گیاه‌خواران شوند. دیواره های سلولی حاوی آلژینان[5] است که نقش مهمی در جذب مواد معدنی (چون فلزات سنگین) و آلی (چون فنول ها و رنگها) زیانبار برای محیط زیست و سلامتی انسانها دارد [۴۱].

سندسموس یک شاخص زیستی متداول تغییرات فیزیکی و شیمیایی در شرایط زیست محیطی است. این جنس معمولا برای آشکار سازی حضور مواد مغذی یا سموم منتج از منابع انسانی به سیستم های آبی نیز استفاده می شود. این گونه در آب های شیرین زیست می کند و شاخص زیستی این محیط‌ها هستند. دمای مناسب رشد آن ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد و شدت نور مناسب برای آن ۶۰-۴ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه است [۵۹، ۶۰]. همچنین به عنوان پالایشگر زیستی[6] برای حذف ترکیبات مختلف موجود در پساب‌ها می تواند عمل کند. به همین منظور امروزه کشت انبوه جلبک ها درمناطق مختلف جهان مورد توجه زیادی قرار گرفته است [۵۶].

---

[1] Chitonous bristles
[2] Chloroplast
[3] Pyrenoid
[4] Autocoenobium
[5] Algenane
[6] Biofilter