



دانشکده علوم طبیعی

گروه علوم گیاهی

رساله پژوهشی برای دریافت درجه دکتری

در رشته‌ی زیست‌شناسی گیاهی گرایش فیزیولوژی گیاهی

عنوان

بررسی توانایی تجزیه زیستی مواد رنگزای آلی از آبهای آلوده توسط گونه‌های گیاهی

Hydrocotyle vulgaris و *Azolla filiculoides*

استادان راهنما

دکتر علی موافقی

دکتر علیرضا ختائی

استادان مشاور

دکتر سید یحیی صالحی

دکتر محمود زارعی

پژوهشگر

فاطمه وفائی ممقانی

نام خانوادگی دانشجو: وفائی ممقانی	نام: فاطمه
عنوان پایان نامه: بررسی توانایی تجزیه زیستی مواد رنگزای آلی از آبهای آلوده توسط گونه‌های گیاهی <i>Azolla filiculoides</i> و <i>Hydrocotyle vulgaris</i>	
استادان راهنما: دکتر علی موافقی و دکتر علیرضا ختائی	
استادان مشاور: دکتر سید یحیی صالحی و دکتر محمود زارعی	
مقطع تحصیلی: دکتری رشته: زیست‌شناسی گیاهی گرایش: فیزیولوژی	
دانشگاه: دانشگاه تبریز دانشکده: علوم طبیعی تاریخ فارغ‌التحصیلی: تابستان ۹۲ تعداد صفحه: ۱۱۵	
کلید واژه ها: گیاه پالائی، <i>Azolla filiculoides</i> ، <i>Hydrocotyle vulgaris</i> ، مواد رنگزا، تخریب زیستی، آنزیمهای آنتی‌اکسیدان، شبکه عصبی مصنوعی.	
<p>چکیده: رشد جهانی جمعیت و افزایش روزافزون نیاز به صنایع مختلف، منجر به انباشتگی طیف وسیعی از آلاینده‌ها در محیط زیست و منابع طبیعی شده است. مواد رنگزای مصنوعی بطور گسترده در صنایع مختلف مانند رنگرزی، کاغذ، چرم، غذا و داروسازی استفاده می‌شوند. تخلیه پساب ناشی از این کارخانه‌ها اثرات مخربی روی محیط زیست و موجودات زنده دارد. لذا یافتن روشهای موثر و اقتصادی برای تصفیه آبهای آلوده به مواد رنگزا همواره ضروری بوده است. اخیرا همراه با پیشرفت روشهای بیولوژیکی استفاده از گیاهان، به عبارت دیگر گیاه‌پالائی به عنوان یک روش مقرون به صرفه و سازگار با طبیعت ظهور پیدا کرده است.</p> <p>هدف عمده پژوهش حاضر ارزیابی توانایی <i>Azolla filiculoides</i> و <i>Hydrocotyle vulgaris</i> در گیاه‌پالائی مواد رنگزای آزو پرکاربرد در رنگرزی است. هر دو گیاه قادر به حذف آبی اسیدی ۹۲ (AB92) و قرمز بازی ۴۶ (BR46) از آبهای آلوده تا بیش از ۸۰٪ بودند. تاثیر شرایط آزمایش نظیر وزن تر گیاه، غلظت اولیه ماده رنگزا، pH و دما بر روی کارایی حذف مواد رنگزا بررسی گردید. بر اساس نتایج آزمایشها، pH بهینه جهت حذف زیستی AB92 و BR46 به ترتیب pH اسیدی و قلیایی بود و دمای بهینه ۲۵ °C بود. افزایش غلظت مواد رنگزا و وزن گیاهی همراه با افزایش مقدار مطلق مواد رنگزای حذف شده از محلول بود. بعلاوه با انجام آزمایشهای تکرارپذیری، فرآیند تخریب زیستی از جذب سطحی تشخیص داده شد. بطوریکه گیاهان درصد حذف بدست آمده در دوره اول را در دوره های بعدی آزمایش (۴ دوره) حفظ نمودند. ترکیبهای حدواسط حاصل از تجزیه زیستی مواد رنگزا توسط گیاهان با آنالیز GC-MS شناسایی شدند و مسیرهای تخریب گیاهی پیشنهاد گردیدند. همچنین از شبکه عصبی مصنوعی برای مدلسازی فرآیند حذف زیستی استفاده شد. از آنجائیکه ضریب همبستگی بین داده‌های تجربی و داده‌های پیش‌بینی شده بالا بود، لذا مدل‌های شبکه عصبی حاصل، فرآیند حذف زیستی مواد رنگزا را بخوبی پیش‌بینی کردند. مواد رنگزا و حدواسطهای حاصل از تجزیه آنها توانستند تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را در گیاهان تحریک نمایند. لذا جنبه دیگر از کار پژوهشی ارزیابی پاسخهای آنتی‌اکسیدان و محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی این گیاهان به تنش ناشی از مواد رنگزا بود. عموما تیمار با مواد رنگزا باعث کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی شد. فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدان شامل سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز تحت تیمار با مواد رنگزا افزایش نشان داد. پاسخهای آنزیمها بسته به اندام گیاهی، نوع ماده رنگزا و غلظت آن متفاوت بود. با این وجود افزایش معنی‌دار در مقدار مالون‌دی‌آلدئید در گیاهان ثبت نگردید که بیانگر کارایی بالای سیستم آنتی‌اکسیدان در حذف گونه‌های واکنشگر اکسیژن بود. براساس این نتایج A. <i>filiculoides</i> و <i>H. vulgaris</i> به عنوان گونه‌های توانا برای گیاه‌پالائی آبهای آلوده به AB92 و BR46 معرفی شدند که برای گیاه‌پالائی اکوسیستم‌های آبی آلوده با مواد رنگزا می‌توانند موثر باشند.</p>	

فهرست مطالب

صفحه

فصل اول: بررسی منابع

۱	۱-۱- مقدمه	۱
۲	۲-۱- آلاینده‌های محیط زیست	۲
۲	۱-۲-۱- آلاینده‌های معدنی	۲
۳	۲-۲-۱- آلاینده‌های آلی	۳
۴	۱-۲-۲-۱- آلاینده‌های رنگزا	۴
۴	۲-۲-۲-۱- مواد رنگزای مورد استفاده در پژوهش حاضر	۴
۶	۳-۱- انواع روشهای رنگزدایی از پسابها	۶
۶	۱-۳-۱- رنگزدایی پسابها با جذب سطحی و روشهای فیزیکوشیمیایی	۶
۶	۲-۳-۱- رنگزدایی فتوکاتالیزوری و اکسایش مواد رنگزا	۶
۶	۳-۳-۱- تجزیه زیستی مواد رنگزا	۶
۸	۴-۱- گیاه‌پالائی	۸
۸	۱-۴-۱- استخراج گیاهی	۸
۹	۲-۴-۱- تخریب گیاهی یا تغییر گیاهی	۹
۹	۳-۴-۱- فیلتراسیون گیاهی	۹
۱۰	۴-۴-۱- پایدارسازی گیاهی	۱۰
۱۰	۵-۴-۱- فرارسازی گیاهی	۱۰
۱۱	۶-۴-۱- تخریب ریزوسفری	۱۱
۱۱	۷-۴-۱- بازیافت گیاهی	۱۱
۱۲	۵-۱- فیزیولوژی جذب و انتقال آلاینده‌ها در گیاهان	۱۲
۱۲	۱-۵-۱- جذب آلاینده‌ها توسط برگها	۱۲
۱۳	۲-۵-۱- نفوذ آلاینده‌ها به ریشه‌ها	۱۳
۱۴	۳-۵-۱- جابجایی آلاینده‌های محیطی در گیاهان	۱۴
۱۶	۶-۱- تاثیر آلاینده‌ها در فراساختار و فعالیتهای متابولیکی سلول گیاهی	۱۶
۱۷	۷-۱- سرنوشت آلاینده‌های آلی در سلول گیاهی	۱۷
	۸-۱- تولید گونه‌های فعال اکسیژن در تنش‌های غیرزیستی و مکانیسم آنتی‌اکسیدانی دخیل در سم‌زدایی	۲۰
۲۵	۹-۱- گونه‌های مورد بررسی در کار پژوهشی	۲۵
۲۵	۱-۹-۱- مشخصات عمومی <i>Azolla filiculoides</i> L.	۲۵
۲۶	۱-۱-۹-۱- بررسیهای انجام گرفته در زمینه گیاه‌پالائی در جنس <i>Azolla</i>	۲۶

۲۹ ۲-۹-۱-۱ - مشخصات عمومی <i>Hydrocotyle vulgaris</i>
۲۹ ۱-۲-۹-۱ - بررسیهای انجام گرفته در زمینه گیاهپالائی در جنس <i>Hydrocotyle</i>
۳۰ ۱-۱۰-۱ - مدلسازی فرآیندهای زیستی با شبکه عصبی مصنوعی
۳۳ ۱-۱۱-۱ - اهداف پروژه حاضر
	فصل دوم: مواد و روشها
۳۵ ۱-۲-۱ - دستگاهها و مواد مورد استفاده
۳۶ ۲-۲-۱ - جمعآوری نمونه های گیاهی
۳۸ ۲-۳-۱ - شرایط اجرای آزمایشات حذف مواد رنگزا
۴۲ ۲-۴-۱ - آزمایشهای بررسی تاثیر مواد رنگزا بر روی برخی از متغیرهای فیزیولوژیک گیاهان
۴۲ ۲-۴-۱-۱ - تعیین محتوای رنگدانههای فتوستتزی
۴۳ ۲-۴-۲ - بررسی تغییرات رشدی
۴۳ ۲-۴-۳ - سنجش فعالیت تعدادی از آنزیمهای آنتی اکسیدان و میزان تولید مالوندی آلدئید
۴۴ ۲-۴-۳-۱ - فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز
۴۴ ۲-۴-۳-۲ - فعالیت آنزیم پراکسیداز
۴۴ ۲-۴-۳-۳ - فعالیت آنزیم کاتالاز
۴۵ ۲-۴-۳-۴ - تعیین مقدار مالوندی آلدئید
۴۵ ۲-۴-۴ - اندازه گیری پروتئین کل
۴۶ ۲-۵-۱ - آنالیز آماری دادهها
۴۶ ۲-۶-۱ - آنالیز GC-MS
۴۷ ۲-۷-۱ - مدلسازی فرآیند حذف زیستی با شبکه عصبی مصنوعی
	فصل سوم: نتایج و بحث
۴۹ ۳-۱-۱ - نتایج حاصل از بررسی تاثیر عوامل مختلف آزمایشی و محیطی در گیاهپالائی مواد رنگزا ...
۴۹ ۳-۱-۱-۱ - تاثیر متغیر وزن تر گیاه
۵۲ ۳-۱-۱-۲ - تاثیر متغیر غلظت اولیه ماده رنگزا
۵۶ ۳-۱-۱-۳ - تاثیر متغیر pH محیط کشت حاوی ماده رنگزا
۶۰ ۳-۱-۱-۴ - تاثیر متغیر دما
۶۲ ۳-۲-۱ - استفاده مجدد از گیاهان مورد نظر در حذف مواد رنگزا طی آزمایشات تکرارپذیر
۶۴ ۳-۳-۱ - تاثیر مواد رنگزا بر برخی از متغیرهای فیزیولوژیک گیاهان مورد آزمایش
۶۴ ۳-۳-۱-۱ - تاثیر بر محتوای رنگدانههای فتوستتزی
۶۷ ۳-۳-۲ - تاثیر مواد رنگزا بر فروندها و رشد گیاه آزولا
۶۹ ۳-۳-۳ - تاثیر مواد رنگزا بر فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان و تشکیل مالوندی آلدئید
۶۹ ۳-۳-۳-۱ - تاثیر بر فعالیت سوپراکسیددیسموتاز (SOD)

۷۲ تاثیر بر فعالیت پراکسیداز (POD) ۲-۳-۳-۳
۷۴ تاثیر بر فعالیت کاتالاز (CAT) ۳-۳-۳-۳
۷۶ تاثیر بر غلظت مالوندی‌آلدئید (MDA) ۴-۳-۳-۳
۷۸ نتایج حاصل از گاز کروماتوگرافی جرمی (GC-MS) ۴-۳
۹۱ نتایج حاصل از مدلسازی تخریب زیستی مواد رنگزا با شبکه عصبی مصنوعی ۵-۳
۱۰۰ نتیجه‌گیری کلی ۶-۳
۱۰۲ پیشنهادات ۷-۳
۱۰۳ مقالات منتشر شده از این کار پژوهشی ۸-۳
۱۰۴ منابع

فهرست شکل ها

صفحه

- فصل اول: بررسی منابع
- شکل ۱-۱: نفوذ و جابجایی آلاینده‌های محیطی در گیاهان. ۱۵
- شکل ۲-۱: مسیرهای اصلی تغییر آلاینده‌های آلی در سلولهای گیاهی. ۱۸
- شکل ۳-۱: نحوه شکل‌گیری انواع رادیکالهای آزاد اکسیژن در گیاهان. ۲۱
- شکل ۴-۱: تولید متابولیت‌های جانبی از پراکسیداسیون لیپیدها. ۲۲
- شکل ۵-۱: مسیر سم‌زدایی رادیکالهای آزاد اکسیژن و ارتباط بین مسیرها. ۲۵
- شکل ۶-۱: چرخه زندگی هتروسپور جنس *Azolla*. ۲۶
- شکل ۷-۱: نمونه‌ای از ساختار شبکه عصبی مصنوعی با یک لایه مخفی. ۳۱
- فصل دوم: مواد و روش‌ها
- شکل ۱-۲: نمایی از گیاهان *Azolla filiculoides* (الف) و *Hydrocotyle vulgaris* (ب) در تالاب انزلی. ۳۷
- شکل ۲-۲: طیف جذبی (الف) ماده رنگزای آبی اسیدی ۹۲ به غلظت ۱۰ mg/L و (ب) ماده رنگزای قرمز بازی ۴۶ به غلظت ۱۰ mg/L. ۴۰
- شکل ۳-۲: نمودارهای کالیبراسیون مواد رنگزای (الف) آبی اسیدی ۹۲ در طول موج ۵۷۱ nm و (ب) قرمز بازی ۴۶ در طول موج ۵۳۰ nm. ۴۱
- شکل ۴-۲: منحنی استاندارد پروتئین، رسم شده با استفاده از غلظت‌های مختلف آلبومین سرم گاوی. ۴۶
- فصل سوم: نتایج و بحث
- شکل ۳-۳: تصویری از آزمایش تاثیر متغیر وزن تر گیاه آزولا در حذف قرمز بازی ۴۶ در روز اول (۱) و روز ۷ (۲) از آزمایش. ۵۰
- شکل ۲-۳: تاثیر متغیر وزن تر گیاه آزولا در حذف (الف) آبی اسیدی ۹۲ و (ب) قرمز بازی ۴۶. ۵۱
- شکل ۳-۳: تاثیر متغیر وزن تر گیاه هیدروکوتیل در حذف (الف) آبی اسیدی ۹۲ و (ب) قرمز بازی ۴۶. ۵۱
- شکل ۴-۳: تاثیر متغیر غلظت اولیه ماده رنگزا بر درصد حذف (الف) آبی اسیدی ۹۲ و (ب) قرمز بازی ۴۶ توسط گیاه آزولا و درصد حذف (ج) آبی اسیدی ۹۲ و (د) قرمز بازی ۴۶ توسط گیاه هیدروکوتیل. ۵۴
- شکل ۵-۳: تاثیر متغیر غلظت اولیه ماده رنگزا بر غلظت باقیمانده (الف) آبی اسیدی ۹۲ و (ب) قرمز بازی ۴۶ در محیط حین گیاه پالائی توسط آزولا و در غلظت باقیمانده (ج) آبی اسیدی ۹۲ و (د) قرمز بازی ۴۶ در محیط حین گیاه پالائی توسط هیدروکوتیل. ۵۵
- شکل ۶-۳: تاثیر متغیر pH محلول حاوی ماده رنگزا در میزان حذف آبی اسیدی ۹۲ (الف) در طول آزمایش و (ب) پایان آزمایش توسط گیاه آزولا و حذف همین ماده توسط گیاه هیدروکوتیل (ج) در طول آزمایش و (د) پایان آزمایش. ۵۸
- شکل ۷-۳: تاثیر متغیر pH محلول حاوی ماده رنگزا در میزان حذف قرمز بازی ۴۶ (الف) در طول آزمایش و (ب) پایان آزمایش توسط گیاه آزولا و حذف همین ماده توسط گیاه هیدروکوتیل (ج) در طول آزمایش و (د) پایان آزمایش. ۵۹
- شکل ۸-۳: تاثیر متغیر دمای محیط بر درصد حذف آبی اسیدی ۹۲ (الف) توسط گیاه آزولا (ب) توسط گیاه هیدروکوتیل و درصد حذف قرمز بازی ۴۶ (ج) توسط گیاه آزولا (د) توسط گیاه هیدروکوتیل. ۶۱
- شکل ۹-۳: آزمایشات تکرارپذیری در استفاده مجدد از گیاه آزولا در (الف) حذف آبی اسیدی ۹۲ (ب) حذف قرمز بازی ۴۶ و آزمایشات تکرارپذیری در استفاده مجدد از گیاه هیدروکوتیل در (ج) حذف آبی اسیدی ۹۲ (د) حذف قرمز بازی ۴۶. ۶۳
- شکل ۱۰-۳: تاثیر دو غلظت (۱۰ و ۲۰ mg/L) از آبی اسیدی ۹۲ بر محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی (الف) گیاه آزولا و (ب) گیاه هیدرو کوتیل پس از ۶ روز از تیمار و تاثیر دو غلظت (۱۰ و ۲۰ mg/L) از قرمز بازی ۴۶ بر محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی (ج) گیاه آزولا و (د) گیاه هیدرو کوتیل پس از ۶ روز از تیمار. ۶۶

- شکل ۳-۱۱: سرخسهای قرارگرفته در معرض آبی اسیدی ۹۲ (راست) و قرمز بازی ۴۶ (چپ).
- شکل ۳-۱۲: تاثیر دو غلظت از (الف) آبی اسیدی ۹۲ و (ب) قرمز بازی ۴۶ بر تعداد فروند نسبی.
- شکل ۳-۱۳: تاثیر دو غلظت از (الف) آبی اسیدی ۹۲ و (ب) قرمز بازی ۴۶ بر سرعت رشد نسبی.
- شکل ۳-۱۴: فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در آزولای قرارگرفته در معرض (الف) آبی اسیدی ۹۲ و (ب) قرمز بازی ۴۶ بعد از ۵ روز و هیدروکوتیل قرارگرفته در معرض (ج) آبی اسیدی ۹۲ و (د) قرمز بازی ۴۶ بعد از ۵ روز.
- شکل ۳-۱۵: فعالیت آنزیم پراکسیداز در آزولای قرارگرفته در معرض (الف) آبی اسیدی ۹۲ و (ب) قرمز بازی ۴۶ بعد از ۵ روز و هیدروکوتیل قرارگرفته در معرض (ج) آبی اسیدی ۹۲ و (د) قرمز بازی ۴۶ بعد از ۵ روز.
- شکل ۳-۱۶: فعالیت آنزیم کاتالاز در آزولای قرارگرفته در معرض (الف) آبی اسیدی ۹۲ و (ب) قرمز بازی ۴۶ بعد از ۵ روز و هیدروکوتیل قرارگرفته در معرض (ج) آبی اسیدی ۹۲ و (د) قرمز بازی ۴۶ بعد از ۵ روز.
- شکل ۳-۱۷: میزان تشکیل مالوندی آلدئید در آزولای قرارگرفته در معرض (الف) آبی اسیدی ۹۲ و (ب) قرمز بازی ۴۶ بعد از ۵ روز و هیدروکوتیل قرارگرفته در معرض (ج) آبی اسیدی ۹۲ و (د) قرمز بازی ۴۶ بعد از ۵ روز.
- شکل ۳-۱۸: کروماتوگرام GC-MS حاصل از تخریب زیستی آبی اسیدی ۹۲ توسط گیاه آزولا.
- شکل ۳-۱۹: مسیر فرضی برای تخریب زیستی آبی اسیدی ۹۲ توسط آزولا براساس ترکیبات شناسایی شده از طیف GC-MS.
- شکل ۳-۲۰: کروماتوگرام GC-MS حاصل از تخریب زیستی آبی اسیدی ۹۲ توسط گیاه هیدروکوتیل.
- شکل ۳-۲۱: مسیر پیشنهادی برای تخریب زیستی آبی اسیدی ۹۲ توسط هیدروکوتیل براساس ترکیبات شناسایی شده از طیف GC-MS.
- شکل ۳-۲۲: کروماتوگرام GC-MS حاصل از تخریب زیستی قرمز بازی ۴۶ توسط گیاه آزولا.
- شکل ۳-۲۳: مسیر فرضی برای تخریب زیستی قرمز بازی ۴۶ توسط گیاه آزولا براساس ترکیبات شناسایی شده از طیف GC-MS.
- شکل ۳-۲۴: کروماتوگرام GC-MS حاصل از تخریب زیستی قرمز بازی ۴۶ توسط گیاه هیدروکوتیل.
- شکل ۳-۲۵: مسیر فرضی برای تخریب زیستی قرمز بازی ۴۶ توسط گیاه هیدروکوتیل براساس ترکیبات شناسایی شده از طیف GC-MS.
- شکل ۳-۲۶: خطای مربع میانگین در تعداد نورونهای مختلف طی مدلسازی حذف زیستی آبی اسیدی ۹۲ توسط آزولا (الف) و هیدروکوتیل (ب) و مدلسازی حذف زیستی قرمز بازی ۴۶ توسط آزولا (ج) و هیدروکوتیل (د).
- شکل ۳-۲۷: ضریب همبستگی بین داده‌های تجربی و داده‌های پیش‌بینی شده توسط شبکه عصبی مصنوعی در حذف زیستی آبی اسیدی ۹۲ توسط آزولا (الف) و هیدروکوتیل (ب) و در حذف زیستی قرمز بازی ۴۶ توسط آزولا (ج) و هیدروکوتیل (د).
- شکل ۳-۲۸: اهمیت و تأثیر نسبی هریک از متغیرهای ورودی بر روی کارایی رنگزدایی آبی اسیدی ۹۲ توسط آزولا (الف) و هیدروکوتیل (ب) و بر روی کارایی رنگزدایی قرمز بازی ۴۶ توسط آزولا (ج) و هیدروکوتیل (د).

فهرست جدول ها

صفحه

- جدول ۱-۲: ترکیب محیط کشت اختصاصی سرخس آزولا. ۳۷
- جدول ۲-۲: ترکیب محیط کشت هوگلند تغییر یافته جهت کشت گیاه هیدروکوتیل. ۳۸
- جدول ۳-۲: ساختار مولکولی و برخی از ویژگیهای شیمیایی مواد رنگزای آبی اسیدی ۹۲ و قرمز بازی ۴۶. ۳۹
- جدول ۱-۳: پیکهای اصلی و زمان ماند ترکیبات حدواسط شناسایی شده در تخریب زیستی آبی اسیدی ۹۲ توسط گیاه آزولا. ۷۹
- جدول ۲-۳: پیکهای اصلی و زمان ماند ترکیبات حدواسط شناسایی شده در تخریب زیستی آبی اسیدی ۹۲ توسط گیاه هیدروکوتیل. ۸۳
- جدول ۳-۳: پیکهای اصلی و زمان ماند ترکیبات حدواسط شناسایی شده در تخریب زیستی قرمز بازی ۴۶ توسط گیاه آزولا. ۸۶
- جدول ۴-۳: پیکهای اصلی و زمان ماند ترکیبات حدواسط شناسایی شده در تخریب زیستی قرمز بازی ۴۶ توسط گیاه هیدروکوتیل. ۸۹
- جدول ۵-۳: وزنهای بدست آمده از مدلسازی تخریب زیستی آبی اسیدی ۹۲ توسط گیاه آزولا. ۹۵
- جدول ۶-۳: وزنهای بدست آمده از مدلسازی تخریب زیستی آبی اسیدی ۹۲ توسط گیاه هیدروکوتیل. ۹۶
- جدول ۷-۳: وزنهای بدست آمده از مدلسازی تخریب زیستی قرمز بازی ۴۶ توسط گیاه آزولا. ۹۷
- جدول ۸-۳: وزنهای بدست آمده از مدلسازی تخریب زیستی قرمز بازی ۴۶ توسط گیاه هیدروکوتیل. ۹۸

فصل اول

بررسی منابع

۱-۱- مقدمه

آب مهمترین منبع طبیعی در جهان می‌باشد که حیات وابسته به آن است. انسان بدون غذا چندین روز زندگی می‌کند ولی عدم دسترسی به آب نتایج هلاکت باری دارد. آب مهمترین عامل کشاورزی است و در غالب صنایع در تهیه محصولات صنعتی مصرف می‌شود. از اینرو وجود منابع مطمئن و ایمن آب از شرایط ضروری تشکیل جامعه پایدار است. مشکلات در ارتباط با عرضه آب می‌تواند ناشی از تاثیرات متقابل مابین انسان و ضایعات صنعتی با محیط زیست باشد و افزایش نیاز به منابع آب این ضرورت را پیش می‌آورد که با بکارگیری علوم مربوطه در مورد چرخه آب از کیفیت و کمیت آن نگهداری کرد.

در راستای تحقق این هدف عظیم، روشهای موثر و مقرون به صرفه تصفیه آب جهت حذف آلاینده‌های مختلف از آبهای آلوده در حال توسعه می‌باشند. از روشهای ساده و سازگار با محیط می‌توان به توسعه استفاده از موجودات زنده نظیر باکتریها، قارچها و گیاهان در قالب روشهای زیستی اشاره نمود. گیاهان دارای توانایی پاکسازی محیط زیست با مکانیسم‌های مختلف انباشته‌سازی، تخریب زیستی، تولید تراوشات ریشه‌ای و ... در این امر مشارکت می‌نمایند. لذا شناسایی و معرفی گونه‌های گیاهی توانمند، در بهره‌گیری هدفمند از آنها در محیط‌های آلوده، کمک شایانی به پیشرفت روشهای زیستی در پالایش منابع طبیعی خواهد نمود. در این کار پژوهشی برای اولین بار توانایی دو گونه گیاه آبی از جنس‌های آزولا و هیدروکوتیل در حذف مواد رنگزای پرکاربرد از آبهای آلوده معرفی می‌شود.

۱-۲- آلاینده های محیط زیست

منابع آلودگی به دو گروه تقسیم می‌شوند: منابع طبیعی و منابع انسانی. آلودگی طبیعی از فرآیندهایی مثل نشر گازهای سمی طی فوران آتشفشان، شستشوی عناصر سمی معادن طی جریان سیلاب یا زمین‌لرزه، فعالیت متابولیک موجودات زنده مثل ترشح مواد سمی و ... حاصل می‌شود. اما مشارکت انسان در آلودگی محیط بسیار موثر می‌باشد. گسترش شهرها، افزایش سالیانه کارخانه‌های تولید مواد شیمیایی، رشد غیرمنتظره صنایع و ترابری، فعالیتهای نظامی و ... از عوامل مهم آلودگی محیط هستند (دانشور، ۱۳۸۳؛ دانشور، ۱۳۸۸).

بدون شک بخش اعظم ترکیبات شیمیایی سنتزی مانند آفت‌کشها، حلالها، محصولات نفتی، مواد شیمیایی مورد استفاده در صنعت پلیمر و ... سمی هستند. ترکیبات سمی با منشاء طبیعی نیز وجود دارند که مهمترین آنها سموم پلی‌پتیدی میکروارگانسیمها، گلیکوزیدهای سیانوژن، گلوکوزینولاتها، لکتینها، فنلها، کومارینها و برخی متابولیتهای ثانویه گیاهان می‌باشند. این ترکیبات در طبیعت در غلظتهای کم یافت می‌شوند و در مقایسه با ترکیبات سمی حاصل از فعالیتهای انسانی به عنوان آلاینده محسوب نمی‌شوند. واژه سمیت^۱ از ریشه یونانی *toxikon* گرفته شده است و به توانایی ترکیبات شیمیایی طبیعی و صنعتی در مقادیر فراتر از سطوح نرمال فارموکولوژیک برای تحریک اختلال فرآیندهای طبیعی اطلاق می‌شود. البته با پیشرفتهای دارویی، زیستی و شیمی سمیت تعریف مختصری ندارد. به لحاظ اثرگذاری، واژه سمیت به عملکرد موادی گفته می‌شود که توانایی مهار معنی‌دار رشد، تولید مثل یا عملکردهای معین موجودات زنده یا اندامهای خاص درون آنها را دارند (Kvesitadze et al., 2006; Kvesitadze and Bezborodov, 2002).

آلاینده‌های سمی محیط در دو گروه آلاینده‌های معدنی و آلی طبقه‌بندی می‌شوند که به اختصار در بخشهای بعدی توضیح داده می‌شوند.

^۱ Toxicity

۱-۲-۱- آلاینده‌های معدنی

فلزات سنگین^۱ مهمترین آلاینده‌های معدنی هستند. آنها اجزای طبیعی پوسته زمین هستند، اما بدلیل فعالیتهای انسانی نظیر معدنکاری، فرآیندهای استخراج و گداختن، فاضلابهای صنعتی، تولید سوخت، عملیات جنگی، استفاده از مواد شیمیایی کشاورزی، کوره‌های آجر و ... غلظت آنها در بسیاری از اکوسیستمها به سطوح سمی می‌رسد (Jadia and Fulekar, 2009). واژه فلزات سنگین به عناصر شیمیایی که چگالی آنها حداقل ۵ برابر سنگین تر از آب باشد اطلاق می‌شود، البته یک واژه‌ی توصیفی است چون شامل عناصر کاملاً سبک مثل مس نیز می‌شود (Brooks, 1998). به لحاظ اکولوژیکی هر فلز و شبه فلزی که بصورت زیستی تخریب نشود و معطل محیطی ایجاد نماید به عنوان فلز سنگین تلقی می‌شود. ۵۳ عنصر در لیست فلزات سنگین قرار می‌گیرند (Padmavathiamma and Loretta, 2007). بسیاری از این فلزات هر چند در غلظتهای کم مورد نیاز موجودات زنده هستند ولی در غلظتهای بالا سمی هستند. همینطور با جایگزینی فلزات ضروری آنزیمها و رنگدانه‌ها عملکرد آنها را مختل می‌نمایند و باعث آسیب به DNA و اثرات سرطانزایی در انسان و جانوران می‌شوند (Henry, 2000; Knasmuller et al., 1998).

۱-۲-۲- آلاینده‌های آلی

این آلاینده‌ها شامل گروههای بسیار وسیعی هستند که چند گروه مهم آنها آفت‌کشها^۲، مواد رنگزای مصنوعی^۳، بی‌فنلهای پلی‌کلرینه (PCBs)^۴، آلاینده‌های آلی پایدار نظیر دی‌وکسین‌ها، هیدروکربنهای آروماتیک

¹ Heavy metals

² Pesticides

³ Synthetic dyes

⁴ Polychlorinated biphenyls

چندحلقه‌ای (PAHs)¹، فتالات‌ها، آلکانها و آلکنهای کلرینه، پاک‌کننده‌ها²، بنزن و همولوگهایش و گازهای آلاینده می‌باشند (Kvesitadze et al., 2006).

۱-۲-۲-۱- آلاینده‌های رنگزا

مواد رنگزای مصنوعی بطور وسیعی در تکنولوژیهای مختلف مانند شاخه‌های مختلف صنایع نساجی، چرم‌سازی، تولید کاغذ، تکنولوژی مواد غذایی، تحقیقات کشاورزی، سلولهای فتوالکتروشیمی، آرایه‌های جمع‌کننده نور و آرایشی استفاده می‌شوند. همینطور این مواد برای کنترل درجه تاثیر پسابها، ردیابی آبهای زیرزمینی و تعیین سطح خاص لجن فعال بکار رفته‌اند (Daneshvar et al., 2007a).

مواد رنگزای مصنوعی تنوع ساختاری زیادی نشان می‌دهند. از مهمترین گروههای شیمیایی مواد رنگزای مصرفی در صنایع می‌توان مشتقات آزو، آنتراکینون، سولفور، ایندیگوئید، اکسازین، تری فنیل متیل و فتالوسیانین را نام برد. اکثریت مواد رنگزای بکار رفته در صنعت مشتقات آزو می‌باشند، که ترکیبات آروماتیک با یک یا چند گروه -N=N- می‌باشند (Forgacs et al., 2004; Pandey et al., 2007).

۱-۲-۲-۱- مواد رنگزای مورد استفاده در پژوهش حاضر

مواد رنگزای گروه آزو مهمترین و بزرگترین گروه از مواد رنگزای تجاری و پرکاربردترین ترکیبات رنگزای مورد استفاده در صنایع مختلف هستند. آزادسازی پسابهای حاوی این ترکیبات رنگزا در محیط زیست و منابع طبیعی منجر به مشکلات متعددی نظیر سمیت به موجودات زنده بصورت کشندگی، جهش‌زایی و سرطان‌زایی، کاهش فتوسنتز و رشد گیاهان و کاهش کیفیت و مطلوبیت آب می‌شوند. این گروه

¹ Polycyclic aromatic hydrocarbons

² Surfactant

از گزنویوتیکها به دلیل وجود پیوند آزو ($-N=N-$) در ساختارشان که آنها را پایدار و مقاوم در برابر گرما، نور و عوامل اکسید کننده می نماید، در برابر تجزیه زیستی مقاوم هستند (Khataee and Kasiri, 2010).

در پژوهش حاضر از این گروه دو ماده رنگزا شامل آبی اسیدی ۹۲^۱ و قرمز بازی ۴۶^۲ به منظور تجزیه زیستی توسط دو گونه گیاهی ذکر شده مورد آزمایش قرار گرفتند. ساختار مولکولی و برخی از ویژگیهای شیمیایی آنها در جدول ۲-۳ در فصل مواد و روشها آورده شده است.

آبی اسیدی ۹۲ در رنگرزی ابریشم، پشم، ویسکوز، کاغذ و چرم کاربرد زیادی دارد. در ایران نیز جزء مواد رنگزای پرمصرف می باشد. این ماده خاصیت موتاژنی دارد ولی ویژگی سرطانی آن بطور دقیق مشخص نشده است. سمیت آن در انسان بصورت انقباض ماهیچه ای و تنگی نفس ظاهر می شود. در اکوسیستمهای آبی ورود آن در زنجیره غذایی موجودات آبی باعث بی نظمی های فیزیولوژیک نظیر آسیب های کلیوی، گرفتگی ماهیچه ها و ایجاد فشار خون می شود، به عنوان نمونه سمیت آبی اسیدی ۹۲ در نوعی ماهی با تغییر در تعادل یونی اندامهای ماهی گزارش شده است (Karthikeyan et al., 2006; Khalighi, 2007; Sheshdeh et al., 2012; Patnaik, 2007).

قرمزبازی ۴۶ به عنوان ماده رنگزای مناسب در رنگرزی پشم، ابریشم، اکریلیک و پلی استر استفاده فراوانی دارد. وجود این ماده رنگزا در لباسها و ملافه های رنگ شده با آن منجر به آلرژی های پوستی می شود از جمله می توان به بیماری درماتیت پا در انسانها اشاره کرد (Opie et al., 2003).

کارخانه های مصرف کننده این مواد رنگزا تولید پسابهای حاوی آنها را می کنند که حذف آنها قبل از تخلیه به محیط بدلیل اثرات مضر ذکر شده با روشهای مقرون به صرفه امری ضروری است.

¹ C.I. Acid Blue 92

² C.I. Basic Red 46

۳-۱- انواع روشهای رنگزدایی از پسابها

روشهای سنتی تصفیه پسابها بدلیل پایداری شیمیایی مواد رنگزای مصنوعی مورد استفاده در نساجی غیر موثر می‌باشند. روشهای زیادی برای حذف مواد رنگزای مصنوعی توسعه یافته‌اند که برخی از آنها در زیر توضیح داده می‌شوند.

۱-۳-۱- رنگزدایی پسابها با جذب سطحی و روشهای فیزیکوشیمیایی

جذب سطحی روی مواد جامد موثر و ارزان یک روش ساده و اقتصادی برای رنگزدایی پسابها می‌باشد. مواد جامد شامل مواد آلی مانند انواع بخشهای غیرقابل مصرف گیاهان و مواد غیرآلی نظیر جاذبهای کربنی می‌باشند. عدم تغییر ساختار مواد رنگزای جذب شده و غیرانتخابی بودن جذب مواد از معایب این روش محسوب می‌شود. فرآیندهای انعقادسازی و انعقاد الکتریکی و تکنیکهای جداسازی با حبابهای جاذب از دیگر روشهای فیزیکوشیمیایی مورد استفاده می‌باشد (Forgacs et al., 2004; Gupta and Suhas., 2009).

۲-۳-۱- رنگزدایی فتوکاتالیزوری و اکسایش مواد رنگزا

روشهای فتوکاتالیز، اکسایش با اکسیدکننده‌هایی مانند پراکسید هیدروژن، ازناسیون و تجزیه نوری در حضور کاتالیستهایی مانند TiO_2 از مهمترین این روشها می‌باشند که به نوبه خود هزینه‌بر هستند (Fathinia et al., 2010; Khataee and Kasiri, 2010).

۳-۳-۱- تجزیه زیستی مواد رنگزا

کاربرد میکروارگانیسمها در تجزیه مواد رنگزا روش جالب و مناسبی است. اکثریت مواد رنگزا به لحاظ شیمیایی پایدار هستند و مقاوم به حمله میکروبی هستند. تفکیک سویه‌های سلولی جدید یا انواع سازگار به

تجزیه مواد رنگزا، کارایی زیست‌پالایی مواد رنگزا را افزایش خواهد داد. فرآیندی که بصورت کشت مخلوط یا خالص در شرایط هوازی و یا بی‌هوازی اجرا می‌شود نسبتاً ارزان بوده و محصولات نهایی تجزیه نیز با معدنی شدن کامل، غیرسمی می‌شوند (Saratale et al., 2011).

قارچها نیز بدلیل داشتن طیف وسیع آنزیمهای خارج سلولی مانند لاکاز، لیگنین پراکسیداز، فنول اکسیداز و پراکسیدازهای وابسته و مستقل از منگنز ظرفیت رنگزدایی وسیعی نشان می‌دهند (Hoehamer et al., 2006; Jarosz-Wilkolazka et al., 2004; Kaushik and Malik, 2009; Moldes et al., 2003).

از گونه‌های مختلف جلبکها مانند *Oscillatoria*، *Chlorella vulgaris*، *Chlorella pyrenoidosa* و *Cladophora sp.* و *Vaucheria sp.*، *Chara sp.*، *tenuis* است (Daneshvar et al., 2007a; Khataee and Dehghan, 2011; Khataee et al., 2010a; Khataee et al., 2009; Khataee et al., 2011a).

تجزیه آنزیمی مواد رنگزای مصنوعی از دیگر روشهای زیستی محسوب می‌شود. تاکنون آنزیمهای مختلفی از منابع مختلف زیستی مانند لیگنین پراکسیداز از قارچ و پراکسیداز از خردل تخلیص شده‌اند و کاربرد آنها در تجزیه مواد رنگزا موفق بوده است (Boer et al., 2004; Jamal et al., 2010; Ollikka et al., 1993; Wong and YU, 1999).

اخیرا توانایی تعدادی از گیاهان نیز در گیاه‌پالایی مواد رنگزای مصنوعی ثابت شده است. تجزیه زیستی *Typhonium* توسط Brilliant Blue R ماده رنگزا، *Phragmites australis* توسط Acid Orange 7، *flagelliforme* ماده رنگزای Reactive Red 2 توسط *Brassica juncea* و مخلوطی از رنگهای مختلف توسط *Glandularia pulchella* از آبهای آلوده و پسابها گزارش شده است (Carias et al., 2008; Davies et al., 2009; Davies et al., 2005; Ghodake et al., 2008; Kabra et al., 2012; Kagalkar et al., 2010; Khandare et al., 2011a).

۱-۴- گیاه پالائی¹

یک واژه نسبتاً جدید برای تکنولوژیهای طبیعی بر پایه استفاده از گیاهان برای پالایش محیط می‌باشد. پیشوند "Phyto" به معنی گیاه و پسوند لاتین "remedium" به معنی پالایش و بازیافت می‌باشد (Flathman and Lanza, 1998). در این تکنولوژی از گیاهان برای پاکسازی خاکها و آبهای آلوده با فلزات سنگین و مواد آلی سمی استفاده می‌شود. میکروارگانیسیم‌ها نیز در این امر مشارکت می‌نمایند و بیشتر اوقات گیاه پالائی عملکرد مشترک گیاه و میکروارگانیسیم است (Kvesitadze et al., 2006). کم‌هزینه بودن نسبت به فرآیندهای سنتی درون و خارج مکانی، امکان بازیافت و استفاده مجدد از محصولات، مشاهده آسان گیاه و حفاظت از حالت طبیعی محیط از مزایای مهم این روش محسوب می‌شود (Shukla and Singh, 2010). انواع روشهای موجود در گیاه پالائی به اختصار توضیح داده می‌شوند.

۱-۴-۱- استخراج گیاهی²

شامل جذب سموم بویژه فلزات سنگین و شبه فلزات توسط ریشه‌ها و انتقال به اندام هوایی گیاه است. آلاینده‌ها در ساقه و برگها انباشته می‌شوند و با جمع‌آوری گیاه از محیط حذف می‌شوند. روشهای استخراج گیاهی به دو دسته استخراج گیاهی دائمی و استخراج گیاهی القایی تقسیم می‌شوند. در نوع دائمی و پیوسته نیاز به استفاده از گیاهانی است که بطور خاص در تمام عمرشان آلاینده‌های سمی را به مقدار زیاد انباشته می‌کنند و به عنوان ابرانباشته‌گرها³ شناخته می‌شوند. در نوع القایی انباشتگی با افزودن تسهیل‌کننده‌ها یا همبندکننده‌ها به خاک افزایش می‌یابد (Sarma, 2011).

¹ Phytoremediation

² Phytoextraction

³ Hyperaccumulators

ابرانباشته‌گرهای فلزات توانایی تغلیظ فلزات در بافتهای خود را در غلظتی بیش از خاک دارند. تقریباً ۴۰۰ گونه ابرانباشته‌گر از ۲۲ تیره شناسایی شده است و تیره شب‌بو بیشترین تعداد را دارد. در مقابل انباشته‌گرها، گونه‌های شاخص فلز^۱ نیز بطور فعال فلز را در بافتهای هوایی خود انباشته می‌کنند ولی مقدار انباشتگی بیشتر از خاک نیست و سطح فلز خاک را منعکس می‌کند. عده‌ای از گیاهان رشد یافته در خاکهایی با غلظت زیاد عناصر، دفع‌کننده فلز^۲ هستند و از ورود فلز به بخشهای هوایی ممانعت می‌کنند (Peer et al., 2005; Tamas et al., 2006).

۱-۴-۲- تخریب گیاهی^۳ یا تغییر گیاهی^۴

شامل جذب، انباشته‌سازی و تغییر آلاینده‌های سمی آلی از خاک، منابع آب و هوا است. آلاینده‌های آلی توسط آنزیمهای داخلی گیاه یا آنزیمهای ترشح شده به ریزوسفر به ترکیباتی با سمیت کمتر تبدیل می‌شوند و در نتیجه اکسایش کامل به آب و CO₂ تبدیل می‌شوند. این تکنولوژی در مکانهای آلوده به پسابهای نفتی، حلالهای کلری، آفت‌کشها، مواد منفجره و ... موثر است (Dosnon-Olette et al., 2009; Kvesitadze et al., 2006; Peer et al., 2005).

۱-۴-۳- فیلتراسیون گیاهی^۵

در این تکنولوژی از ریشه‌های گیاهان (Rhizofiltration) یا دانه‌رستها (Blastofiltration) برای جذب یا جذب سطحی آلاینده‌ها، عمدتاً فلزات از آب و پسابهای آبی استفاده می‌شود. مکانیسمهای درگیر شامل کمپلکس‌سازی، تبادل یونی، رسوبهای میکرو، تجمع هیدروکسید در سطح و جذب سطحی می‌باشد.

¹ Metal indicators

² Metal excluders

³ Phytodegradation

⁴ Phytotransformation

⁵ Phytofiltration

فیلتراسیون ریشه‌ای در گیاهان حاکی بدلیل داشتن سیستم ریشه‌ای افشان توسعه یافته و تارهای کشنده موثرتر از گیاهان آبی است (Padmavathiamma and Loretta 2007; Tamas et al., 2006).

۱-۴-۴- پایدارسازی گیاهی^۱

در این فرآیند برخی گونه‌های گیاهی آلاینده‌های خاک را از طریق جذب و انباشتگی در ریشه، جذب سطحی به ریشه یا رسوب در منطقه ریشه و تثبیت فیزیکی خاک غیرمتحرک می‌نمایند. برخلاف دیگر تکنیکهای گیاه‌پالائی، فلزات از مکانهای آلوده حذف نمی‌شوند، بلکه با انباشتگی در ریشه‌ها یا رسوب در ریزوسفر خطر آنها کاسته می‌شود و با تشکیل کمپلکسهای فلزی نامحلول دسترسی زیستی کاهش می‌یابد. این تکنیک برای خاکهایی با بافت ظریف و محتوای مواد آلی زیاد موثرتر هستند و برای محوطه‌های وسیع با آلودگی سطحی مناسب می‌باشد. اما در برخی مکانهای خیلی آلوده بدلیل عدم امکان رشد و بقای گیاهی مناسب نیست. گیاهانی با فاکتور تغلیظ زیست شناختی (BCF^۲: نسبت غلظت فلز در ریشه به خاک) بالا و فاکتور جابجائی (TF^۳: نسبت غلظت فلز بخش هوایی به ریشه) پایین پتانسیل پایدارسازی گیاهی را دارند. گیاهان با میزان تعرق بالا مثل گیاهان علفی، جگن‌ها، انواع نی‌ها و گیاهان پربرگ مناسب برای پایدارسازی گیاهی هستند (Suresh and Ravishankar, 2004).

۱-۴-۵- فرارسازی گیاهی^۴

در این فرآیند آلاینده‌های محلول توسط ریشه جذب شده و به برگها منتقل می‌شوند و از طریق روزنه‌ها به اتمسفر آزاد می‌گردند. این پدیده هم در مورد آلاینده‌های آلی و هم غیرآلی امکان‌پذیر است. این

^۱ Phytostabilization

^۲ Bio-Concentration Factor

^۳ Translocation Factor

^۴ Phytovolatilization

روش ابتدا برای حذف جیوه استفاده شد و بعدها معلوم شد که برخی گونه‌های گیاهی نظیر اعضای تیره شب بو و گونه آبی *Typha latifolia* L. سلنیوم را به شکل دی متیل سلنید آزاد می‌کنند. آرسنیک نیز به فرم دی‌متیل‌آرسنیک در جلبکهای دریایی آزاد می‌شود ولی گزارشی در مورد فرارسازی آن در گیاهان وجود ندارد. روش فوق در مورد تریتیوم نیز با تبدیل به هلیوم موفق بوده است (Padmavathiamma and Loretta 2007; Tollsten and Muller, 1996).

۱-۴-۶- تخریب ریزوسفری^۱

این فرآیند در ریزوسفر با ایجاد شرایط بهتر برای رشد و نمو میکروبهای ریزوسفر اتفاق می‌افتد. تراوشات ریشه که محتوی طیف وسیعی از ترکیبات آلی هستند بر مقدار، تراکم و فعالیت میکروبی تاثیر می‌گذارند و فعالیت آنزیمی میکروبهها تجزیه آلاینده‌ها را سبب می‌شوند (Peer et al., 2005; Rajkumar et al., 2012).

۱-۴-۷- بازیافت گیاهی^۲

استفاده از گیاهان بویژه گیاهان بومی خاص برای بازگرداندن زمین به وضعیت طبیعی‌اش می‌باشد. بین حذف آلاینده‌های خاک تا رسیدن آن به سطوح مجاز قابل قبول که دوباره قابل استفاده شوند، تفاوت وجود دارد. هدف بسیاری از پروژه‌های گیاه‌پالائی نیز بازیافت زمین به سطح قابل قبول است. برای این منظور از روشهای گیاه‌پالائی ترکیبی استفاده می‌شود. برای مثال گیاهان انباشته‌گر فلزات و گیاهان تحریک کننده فعالیت میکروبی برای تخریب آلاینده‌های آلی یک سیستم پالایش موثر را ایجاد می‌کنند (Tamas et al., 2006).

^۱ Rhizodegradation

^۲ Phytorestoration