بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده منابع طبیعی

تاثیر فلزات سنگین (نیکل، سرب و مس) بر رشد و تشکیل کلونی در ریزجلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*

پایان نامه کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان

سوگل کیانی

استاد راهنما

دکتر امیدوار فرهادیان

۱۳۹۲

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده منابع طبیعی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته تکثیر و پرورش سوگل کیانی

تحت عنوان

تاثیر فلزات سنگین (نیکل، سرب و مس) بر رشد و تشکیل کلونی در ریزجلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*

در تاریخ ۹۲/۶/۳۱ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای پایان نامه	دکتر امیدوار فرهادیان
۲ – استاد مشاور پایان نامه	دکتر نصراله محبوبی صوفیانی
۳- استاد داور	دکتر عیسی ابراهیمی
۴- استاد داور	دکتر نوراله میرغفاری
معاون پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده	دکتر محمدرضا وهابی

تشکر و قدردانی

یزدان بلند مرتبه را شاکرم که لطف خود را شامل حال من نمود تا بتوانم تحقیق خود را به پایان برسانم و سهمی هرچند اندک در راه توسعه علمی ایران عزیز بردارم که چو ایران نباشد تن من مباد.

از خانواده عزیزم که همواره حامی و مشوقم بودند کمال تشکر و سپاس را دارم.

از استاد با کمالات و شایسته جناب آقای دکتر امیدوار فرهادیان که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفتند کمال سپاس را دارم.

از استاد فرهیخته جناب آقای دکتر نصرالله محبوبی صوفیانی، استاد مشاور عزیزم که با دقت نظر خاصی مرا هدایت و یاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می کنم.

از کارشناسان محترم آزمایشگاه آقایان مهندس ابراهیم متقی، مهندس سعید اسدالله و مهندس کوشیار مختاری که در کارهای مختلف آزمایشگاهی بنده را یاری نمودند، تشکر می نمایم.

از سایر کسانی که در تدوین این تحقیق مرا یاری و حمایت کردند سپاسگزارم و از خداوند منان سلامت و سعادت ایشان را خواستارم.

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،

ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع

این پایان نامه (رساله) متعلق به دانشگاه صنعتی

اصفهان است.

تقدیم به

پدر بزرگوار، مادر مهربان و خواهر عزیزم

که هرآنچه دارم از ایشان است.

و تقدیم به

دانشمندان، بزرگان و آزادمردانی که جان و مال خود را در حفظ و اعتلای این

مرز و بوم فدا نموده و می نمایند.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب.....هشت

فهرست اشکال.....ده

فهرست جداول.....یازده

چکیده.....۱

فصل اول: مقدمه

مقدمه.....۲

فصل دوم: کلیات و مروری بر منابع

۲-۱- ریزجلبک ها.....۵

۲-۲- مصارف تجاری ریز جلبک ها..... ۶

۲-۲-۱- ریزجلبک ها و موادغذایی بشر.....۶

۲-۲-۲- ریزجلبک ها و مواد آرایشی-بهداشتی.....۶

۲-۲-۳- ریزجلبک ها و رنگ.....۷

۲-۲-۴- ریزجلبک ها و مولکول هایی با ارزش بالا.....۸

۲-۲-۵- ریزجلبک ها و سوخت های زیستی.....۸

۲-۳- مصارف صنعتی.....۹

۲-۳-۱- استفاده به عنوان کود.....۹

۲-۳-۲- استفاده در داروسازی.....۹

۲-۳-۳- استفاده به عنوان خوراک آبزیان.....۱۰

۲-۴- کاربرد ریزجلبک ها در پایش بیولوژیکی.....۱۰

۲-۵- معرفی جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* ۱۲

۲-۶- فلزات سنگین.....۱۳

۲-۷- نیکل..... ۱۶

۲-۸- مس ۱۶

۲-۹- سرب ۱۷

۲-۱۰- آلودگی آب با فلزات سنگین.....۱۸

۲-۱۱- تجمع زیستی فلزات سنگین در موجودات زنده.....۱۸

۲-۱۲- مکانیسم سمیت فلزات در موجودات آبزی ۱۹

۲-۱۳- تاثیر فلزات سنگین بر گیاهان و ریزجلبک ها.....۱۹

۲-۱۴- عوامل موثر بر سمیت فلزات سنگین..... ۲۰
۲-۱۵- مروری بر مطالعات انجام شده..... ۲۰
فصل سوم: مواد و روش ها
۳-۱- جمع آوری و خالص سازی جلبک *Scenedesmus quadricauda*..... ۲۲
۳-۲-کشت و پرورش جلبک..... ۲۳
۳-۳- تهیه استوک جلبکی..... ۲۳
۳-۴- محیط کشت..... ۲۴
۳-۵- ظروف و وسایل..... ۲۵
۳-۶- آب..... ۲۵
۳-۷- نحوه انجام آزمایش..... ۲۵
۳-۸- نحوه شمارش جلبک ها..... ۲۶
۳-۹-اندازه گیری میزان جذب نور در طول موج ۶۲۰ نانومتر (OD620)..... ۲۷
۳-۱۰- اندازه گیری وزن خشک..... ۲۷
۳-۱۱- اندازه گیری کلروفیل *a*..... ۲۸
۳-۱۲ محاسبه میزان رشد ویژه..... ۲۸
۳-۱۳- محاسبه زمان دو برابر شدن..... ۲۸
۳-۱۴-محاسبه میزان بازدارندگی سلولی..... ۲۹
۳-۱۵- تجزیه و تحلیل آماری..... ۲۹
فصل چهارم: نتایج و بحث
۴-۱-تاثیر غلظت های مختلف نیکل، مس و سرب بر رشد و تولید در جمعیت سندسموس..... ۳۰
۴-۲- تاثیر غلظت های مختلف نیکل، مس و سرب بر تشکیل کلونی در جمعیت سندسموس..... ۴۶
فصل پنجم: نتیجه گیری و پیشنهادات
۵-۱- نتیجه گیری..... ۵۴
۵-۲- پیشنهادات..... ۵۵
منابع..... ۵۶
چکیده انگلیسی..... ۷۰

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول۲-۱- ترکیب زیست‌توده جلبک ها.....۷
جدول ۲-۲- برخی از محصولات زیستی پرارزش استخراج شده از ریزجلبک ها.....۸
جدول۲-۳- محتوای چربی ریزجلبک‌ها.....۹
جدول۲-۴- تعاریف فلزات سنگین ۱۴
جدول۳-۱- محیط کشت BBM مورد استفاده در کشت جلبک سبز *S.quadricauda*.....۲۴
جدول۳-۲- حجم استوک مخلوط شده جهت تهیه BBM مورد استفاده در کشت جلبک سبز.....۲۴
جدول ۴-۱- آنالیز واریانس یک طرفه تاثیر غلظت‌های مختلف نیکل بر عوامل ۳۳
جدول ۴-۲- آنالیز واریانس یک طرفه تاثیر غلظت‌های مختلف مس بر عوامل ۳۴
جدول ۴-۳- آنالیز واریانس یک طرفه تاثیر غلظت‌های مختلف سرب بر عوامل.....۳۵
جدول ۴-۴- میزان بازدارندگی سلولی بر اساس زیست توده بر جسب درصد در غلظت‌های مختلف نیکل، مس و سرب.....۳۶
جدول ۴-۵- میزان بازدارندگی سلولی بر اساس زیست توده بر جسب درصد در غلظت‌های مختلف نیکل، مس و سرب.....۳۶

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۲-۱- اشکال میکروسکوپی از جلبک *Scenedesmus quadricauda*..... ۱۳

شکل ۳-۱- استوک مورد استفاده در پرورش جلبک *Scenedesmus quadricauda*..... ۲۳

شکل ۳-۲- تصویری از استوک‌های لازم برای تهیه محیط کشت BBM..... ۲۵

شکل ۳-۳- اجزای مختلف لام هموسیتومتر..... ۲۷

شکل ۴-۱- تراکم جلبک سندسموس در غلظت‌های مختلف نیکل در روزهای مختلف آزمایش..... ۳۷

شکل ۴-۲- تراکم جلبک سندسموس در غلظت‌های مختلف مس در روزهای مختلف آزمایش..... ۳۸

شکل ۴-۳- تراکم جلبک سندسموس در غلظت‌های مختلف سرب در روزهای مختلف آزمایش..... ۳۹

شکل ۴-۴- تاثیر غلظت‌های مختلف نیکل بر فاکتورهای رشد جلبک سندسموس در روز ۱۴..... ۴۰

شکل ۴-۵- تاثیر غلظت‌های مختلف مس بر فاکتورهای رشد جلبک سندسموس در روز ۱۴..... ۴۱

شکل ۴-۶- تاثیر غلظت‌های مختلف سرب بر فاکتورهای رشد جلبک سندسموس در روز ۱۴..... ۴۲

شکل ۴-۷- تاثیر غلظت‌های مختلف نیکل بر فاکتورهای زیستی در جلبک سبز..... ۴۳

شکل ۴-۸- تاثیر غلظت‌های مختلف مس بر فاکتورهای زیستی در جلبک سبز..... ۴۴

شکل ۴-۹- تاثیر غلظت‌های مختلف سرب بر فاکتورهای زیستی در جلبک سبز..... ۴۵

شکل ۴-۱۰- تراکم کلونی‌های مختلف از جلبک سندسموس در غلظت های مختلف نیکل در هفته‌های اول و دوم..... ۴۸

شکل ۴-۱۱- تراکم کلونی‌های مختلف از جلبک سندسموس در غلظت های مختلف مس در هفته‌های اول و دوم..... ۴۹

شکل ۴-۱۲- تراکم کلونی‌های مختلف از جلبک سندسموس در غلظت های مختلف سرب در هفته‌های اول و دوم..... ۵۰

شکل ۴-۱۳- درصد کلونی‌های مختلف از کل جمعیت سندسموس در غلظت‌های مختلف نیکل در هفته های اول و دوم..... ۵۱

شکل ۴-۱۴- درصد کلونی‌های مختلف از کل جمعیت سندسموس در غلظت‌های مختلف مس در هفته های اول و دوم..... ۵۲

شکل ۴-۱۵- درصد کلونی‌های مختلف از کل جمعیت سندسموس در غلظت‌های مختلف سرب در هفته های اول و دوم..... ۵۳

چکیده

محیط‌های آبی به علت ورود پسآب‌های صنعتی، کشاورزی و خانگی اغلب در معرض آلاینده‌های مختلف نظیر فلزات سنگین هستند. فلزات سنگین می‌توانند وارد همه اکوسیستم‌ها شوند و مشکلات متعددی برای موجودات آبزی ایجاد کنند. ریزجلبک‌ها به عنوان تولیدکنندگان اولیه در اکوسیستم‌های آبی اهمیت بسیاری دارند زیرا اکسیژن و مواد آلی برای دیگر موجودات را فراهم می‌کنند. در این مطالعه تاثیر غلظت‌های مختلف (۰، ۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم در لیتر) فلزات سنگین نیکل، مس و سرب بر تراکم، رشد، میزان کلروفیل *a*، زیست توده خشک و تغییرات مرفولوژیکی سلولی در جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* بررسی گردید. آزمایش به صورت یک طرح کامل تصادفی به مدت ۱۴ روز در شرایط محیطی محیط کشت Bold Basal's Medium (BBM)، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی: ۱۲ ساعت تاریکی و شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه برای هر دسته از آزمایش‌ها انجام گرفت. نتایج نشان داد که تاثیر سمیت فلزات بسته به فلزات و غلظت‌های آنها متفاوت بود. کاهش معنی داری ($P<0.01$) درتراکم جلبکی، رشد، زیست توده و کلروفیل *a* در تیمارهای مختلف هر دسته از آزمایش‌ها وجود داشت. اثر سمیت فلزات سنگین مورد آزمایش بر زیست توده و کلروفیل *a* به ترتیب مس>سرب> نیکل بود. مرفولوژی سلولی (بر اساس تعداد سلولها در هر کلونی) از جمعیت *S. qaudricauda* در طی دوره آزمایش دچار تغییرات قابل ملاحظه ای گردید. تیمارهای با غلظت‌های پایین‌تر کلنی‌های تک‌سلولی بیشتری داشت ولی با افزایش غلظت فلزات سنگین نیکل، مس و سرب مرفولوژی سلولی تمایل به کلنی‌های چهارسلولی در جمعیت داشت. این مطالعه نشان داد که واکنش *S.quadricauda* به فلزات سنگین سریع، کم‌هزینه و به راحتی قابل اندازه گیری است، بنابراین، این گونه برای پایش بیولوژیکی در آب‌های شیرین به ویژه آب‌های در معرض فلزات سنگین مس، سرب و نیکل توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: جلبک سبز *Scenedesmus qaudricauda*، فلزات سنگین، رشد ، زیست توده، کلروفیل *a*

فصل اول
مقدمه

دخالت بی‌رویه انسان با هدف بهره‌گیری از طبیعت در حال گسترش است و نتیجه این پیشرفت در بهره‌برداری، اثرات زیان‌باری به همراه دارد که بر محیط زیست به ویژه اکوسیستم‌های آبی وارد می‌شود. فلزات سنگین با توجه به پایداری زیست محیطی و تمایل به متمرکز شدن در موجودات آبزی یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های اکوسیستم‌های آبی می‌باشند [۱۷۴]. فلزات سنگین منجر به تاثیرات منفی مختلفی نظیر کاهش رشد، تغییر رفتار، تغییرات ژنتیکی و مرگ و میر در آبزیان می‌شوند [۵]. همچنین به سبب سمیت و تمایل به تجمع موجب ایجاد نگرانی در زنجیره غذایی مصرف ماهی گردیده‌اند [۸۷].

با توسعه سریع صنایع از جمله آبکاری فلزات، استخراج معادن، صنایع کود، دباغی، باتری سازی، صنایع کاغذ، آفت‌کش‌ها و سایر صنایع، به خصوص در کشورهای در حال توسعه، پساب‌های فلزات سنگین به طور فزاینده‌ای به صورت مستقیم یا غیر مستقیم به محیط زیست تخلیه شده است. بر خلاف آلاینده‌های آلی، فلزات سنگین تخریب پذیر نیستند و تمایل به تجمع در موجودات زنده دارند. علاوه بر این بسیاری از یون‌های فلزات سنگین سمی و سرطان‌زا شناخته شده‌اند [۶۳].

فلزات سنگین عناصری هستند که وزن اتمی بین ۶۳/۵ و ۲۰۰/۶ و وزن مخصوص بیشتر از ۵/۰ دارند [۱۶۶]. فلزات سنگین در یک مقیاس وسیع، از منابع طبیعی و با فعالیت‌های انسان وارد محیط زیست می‌شوند. این منابع شامل هوازدگی طبیعی پوسته زمین، استخراج معادن، فرسایش خاک، تخلیه صنعتی، رواناب شهری، فاضلاب‌ها، عوامل کنترل آفت یا بیماری در گیاهان، اثرات و مشکلات ناشی از آلودگی هوا و عوامل دیگر می‌باشند [۱۱۱].

وجود فلزات سنگین در محیط زیست به دلیل سمیت آنها، تجمع زیستی، تهدید برای زندگی انسان و محیط زیست، یکی از نگرانی‌های بزرگ است [۸۱ و ۷۹]. فلزات سنگین اثرات مضری حتی در غلظت بسیار کم در موجودات آبزی از جمله پلانکتون‌ها، گیاهان آبزی، بی مهرگان و مهره داران نشان می‌دهند [۱۵۷].

برخی از فلزات سنگین مانند مس و روی در سطوح پایین برای فعالیت آنزیمی و بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی ضروری هستند ولی برخی از فلزات سنگین مانند کادمیم و سرب هیچ نقشی در موجودات زنده ندارند و حتی در غلظت های کم نیز سمی هستند. فلزات ضروری نیز در غلظت های بالا سمی هستند [۳۴].

مس نقش اساسی در سوخت و ساز بدن دارد اما مصرف بیش از حد آن باعث مشکلاتی از قبیل استفراغ، گرفتگی عضلات، تشنج و یا حتی مرگ می‌شود [۱۲۸]. نیکل بیش از سطح بحرانی ممکن است علاوه بر بروز مشکلات ریوی و کلیوی، باعث بروز ناراحتی‌های گوارشی، فیبروز ریوی و درماتیت پوستی شود [۲۹]. کادمیوم سلامت انسان را در معرض خطرات شدید قرار می‌دهد. اثرات مزمن کادمیوم منجر به اختلال در عملکرد کلیه و اثرات حاد آن منجر به مرگ می‌شود. سرب می‌تواند باعث آسیب به سیستم عصبی مرکزی شود. سرب همچنین می‌تواند باعث آسیب به کلیه، کبد، سیستم تولید مثل، فرآیندها سلولی پایه و عملکرد مغز شود. علائم سمی شامل کم خونی، بی‌خوابی، سردرد، سرگیجه، تحریک‌پذیری، ضعف عضلات، توهم و آسیب‌های کلیوی است [۱۱۶].

همه فلزات سنگین، از جمله آنهایی که عناصر کم‌مصرف ضروری هستند (به عنوان مثال مس و روی) برای جلبک‌ها در غلظت‌های بالا سمی هستند. یکی از ویژگی‌های مشخصه سمیت فلزات سنگین، مسمومیت و غیرفعال کردن سیستم آنزیمی است. بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، یعنی فتوسنتز، تنفس، سنتز پروتئین و سنتز کلروفیل به شدت در غلظت‌های بالای فلزات تحت تاثیر قرار می‌گیرند. آلودگی فلزات سنگین باعث کاهش در تنوع گونه‌ای و منجر به تسلط چند گونه‌ی جلبکی مقاوم می‌شود. بهره‌وری اولیه نیز پس از آلودگی با فلز کاهش می‌یابد [۱۳۷].

ریزجلبک ها تولیدکنندگان اولیه غالب در اغلب محیط‌های آب شیرین هستند و عمده انرژی را برای بسیاری از شبکه‌های غذایی آبی فراهم می‌کنند. ریزجلبک‌ها نقش‌های بیوژئوشیمیایی مهمی را بر حسب تثبیت مواد غذایی و گردش آن درون اکوسیستم بازی می‌کنند [۶۵]. ریزجلبک‌ها به عنوان مواد غذایی در صنعت آبزی‌پروری دارای اهمیت تجاری هستند. با توجه به اهمیت اکولوژیکی و تجاری جلبک‌ها، تحقیقات قابل توجهی در مورد اثر فلزات سنگین در ریزجلبک‌های مختلف انجام شده است [۱۶۷ و ۱۷۷]. علاوه بر این ریزجلبک‌ها دارای توانایی بالایی برای تصفیه پساب هستند. تیمار پساب با استفاده از ریزجلبک‌ها به علت 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 [۵۱ و ۱۷۴].

استفاده از جلبک‌های سبز و کوچک‌اندام در مسیر کانال خروجی مخازن بزرگ و کم‌عمق فاضلابی (اکسیداسیون فاضلابی) سریع‌ترین و کم‌هزینه‌ترین روشی است که به طور موثر می‌تواند مواد فاسد و خطرناک را به کودهای با ارزش و بدون‌بو تبدیل کند. رشد این جلبک‌ها به عنوان گیاه تصفیه کننده در کانال‌های فاضلاب‌ها نیز حائز اهمیت است. این جلبک‌ها برای انجام فعالیت‌های متابولیسم خود نیترات و فسفات را مصرف کرده و با انجام پروسه فتوسنتز اکسیژن آزاد می‌کنند و اکسیژن آزاد شده به باکتری‌های هوازی کمک می‌کند تا در تجزیه مواد خام فاضلاب‌ها فعال باشند. به این ترتیب جلبک‌ها نقش مهمی را در تصفیه فاضلاب‌ها به عهده دارند که گاه به صورت طبیعی این پدیده انجام می‌شود. پروسه فتوسنتز توسط جلبک ها سبب وفور اکسیژن می‌شود و اکسیژن تولید شده به

مصرف میکروارگانیسم‌ها می‌رسد که میکروارگانیسم‌ها مسئولیت تجزیه نمودن بقایای مواد آلی در فاضلاب‌ها را بر عهده دارند [۶].

ریزجلبک‌ها شاخص‌های حساس به تغییرات زیست محیطی و به عنوان اساس بسیاری از اکوسیستم‌های آب شیرین و دریایی هستند و به طور گسترده‌ای در ارزیابی خطرات و نیز توسعه قوانین و مقررات زیست محیطی برای فلزات استفاده می‌شوند [۹۵]. تاکنون مطالعات مختلفی در خصوص تاثیر فلزات سنگین بر فاکتورهای رشد در موجودات مختلف از جمله آبزیان انجام گرفته است و تعداد قابل توجهی از آن ها اثرات سمی فلزات سنگین بر گونه‌های مختلف جلبک‌ها را نشان می‌دهد. به خوبی شناخته شده است که اگر سلول‌های جلبکی در معرض فلزات سنگین قرار گیرند ممکن است دچار تغییرات جدی مورفولوژیک و بیوشیمیایی شوند. نتایج حاصل از این بررسی‌ها نشان می دهد که اثرات مهاری و تحریکی هریک از فلزات سنگین به غلظت آنها بستگی دارد [۱۴۷].

جلبک سبز *Scenedesmus qaudricauda* یکی از متداولترین و معمولترین جلبک ها در محیط‌های آبی شیرین است. سلول های این جلبک غیرمتحرک و فاقد تاژک است و توانایی تشکیل کلونی دارند [۲۳]. این جلبک در شرایط گوناگون می‌تواند کلنی‌هایی بایک سلول تا کلونی‌هایی با هشت سلول تشکیل دهد.

در این تحقیق تاثیر غلظت‌های ۰، ۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم در لیتر فلزات سنگین نیکل، مس و سرب بر میزان رشد و مرفولوژی جمعیت جلبک سبز سندسموس(*S. quadricauda*) بررسی گردید.

اهداف تحقیق

اهداف این پژوهش به شرح زیر خواهد بود:

-بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف فلزات نیکل، مس و سرب بر رشد در جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*

-بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف فلزات نیکل، مس و سرب بر ساختار کلونی در جمعیت جلبک سبز *S. quadricauda*

فصل دوم
کلیات و مروری بر منابع

۲-۱- ریز جلبک ها

ریز جلبک‌ها موجودات تک‌سلولی و میکروسکوپی اند که قادر به تبدیل انرژی خورشیدی به انرژی شیمیایی از طریق فتوسنتز هستند. آنها حاوی ترکیبات فعال زیستی متعددی هستند که می تواند برای مصارف تجاری استفاده شود. ریزجلبک‌ها برای تولید طیف گسترده‌ای از متابولیت‌ها مانند پروتئین‌ها، چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها، کاروتنوئیدها و ویتامین‌ها برای سلامت، غذا و مواد افزودنی، مواد آرایشی و برای تولید انرژی می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند. اولین استفاده از ریز جلبک‌ها توسط انسان به سال ۲۰۰۰ در چین برمی‌گردد، که در دوران قحطی برای زنده ماندن از نوستوک استفاده کردند. با این حال، بیوتکنولوژی ریزجلبکی در اواسط قرن گذشته شروع به توسعه کرد. امروزه ریز جلبک‌ها کاربردهای تجاری متعددی دارند : ریز جلبک‌ها را می توان به منظور افزایش ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی حیوانی و خوراک با توجه به ترکیب شیمیایی آنها مورد استفاده قرار داد، آنها نقش بسیار مهمی در آبزی‌پروری دارند و می توان آنها را به مواد آرایشی و بهداشتی تبدیل کرد. علاوه بر این، آنها به عنوان یک منبع غنی از مولکول های بسیار ارزشمند کشت داده می شوند. برای مثال، روغن اسید چرب اشباع نشده به محتوای غذای نوزاد و مکمل های تغذیه‌ای اضافه می‌شود [۱۳۶].

ریزجلبک‌ها دارای سه ویژگی اساسی اند که به مزیت‌های فنی و تجاری تبدیل شده است. آنها از نظر ژنتیکی گروه بسیار متنوعی از موجودات زنده با طیف گسترده‌ای از ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی هستند، بنابراین به طور طبیعی بسیاری از چربی‌های متفاوت و غیر معمول، قندها، ترکیبات فعال زیستی، و غیره را می‌توانند تولید کنند. آنها شامل گروه بزرگ و ناشناخته‌ای از موجودات زنده هستند و در نتیجه یک منبع تقریبا دست نخورده از محصولات را فراهم می‌کنند. در سال‌های اخیر، ریز جلبک‌ها به غیر از این که به عنوان پروتئین تک‌سلولی استفاده می شود، به عنوان کارخانه‌های سلول‌های زنده برای تولید سوخت‌های زیستی و بیوشیمیایی مختلف مفید در مواد

غذایی آبزیان، طیور و نیز در صنایع دارویی به علت حضور ترکیبات مفید متفاوت مورد استفاده قرار می‌گیرند. ریز جلبک‌ها گروه متنوع از گیاهان میکروسکوپی با طیف گسترده‌ای از ویژگی های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی هستند و شامل بیش از ۵۰-۷۰٪ پروتئین (تا ۵۰٪ در گوشت، و ۱۵-۱۷٪ در گندم)، ۳۰٪ چربی، بیش از ۴۰٪گلیسرول، تا ۸-۱۴٪ کاروتن و غلظت نسبتا بالایی از ویتامین‌های B_1، B_2، B_3، B_6، B_{12}، E، K، D در مقایسه با گیاهان دیگر و یا حیوانات هستند [۱۸].

۲-۲- مصارف تجاری ریز جلبک‌ها

۲-۲-۱- ریز جلبک ها و مواد غذایی بشر

ریزجلبک‌ها منبعی غنی از کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها ، آنزیم‌ها و فیبر هستند. علاوه بر این، بسیاری از ویتامین‌ها و مواد معدنی مثل ویتامین A، C، B_1، B_2، B_6، نیاسین، ید، پتاسیم، آهن، منیزیم و کلسیم به وفور در ریز جلبک‌ها یافت می شود. علاوه بر این یک منبع غنی از مواد مغذی ضروری هستند، آنها یک منبع اصلی از مواد غذایی، به ویژه در کشورهای آسیایی مانند چین، ژاپن و کره هستند. ریز جلبک سبز به عنوان مکمل تغذیه‌ای و یا منبع مواد غذایی در کشورهای آسیایی مورد استفاده قرار می گیرد. بیشترین بیوتکنولوژی ریزجلبک‌ها مربوط به جلبک‌های سبز (Chlorophycea) *Chlorella vulgaris*، *Haematococcus pluvialis*، *Dunaliella salina* و سیانو باکتری *Spirulina maxima* است که به طور گسترده‌ای عمدتا به عنوان مکمل غذایی برای انسان و به به عنوان افزودنی‌های خوراک دام مورد استفاده قرار می‌گیرند. *Spirulina platensis*، یک جلبک سبز آبی است که در سراسر جهان به عنوان یک مکمل غذایی شناخته شده و یکی از مغذی‌ترین مواد غذایی برای انسان است. این گونه به عنوان یک منبع عالی از پروتئین‌ها [۴۵]، اسیدهای چرب غیراشباع [۱۴۹]، رنگدانه‌ها [۱۰۳ و ۱۴۳] ویتامین‌ها و فنولیک‌ها [۱۲۱ و ۴۵] مطرح است. امروزه از اسپیرولینا برای استخراج فیکوسیانین استفاده می‌شود. یکی دیگر از ریزجلبک‌هایی که به عنوان غذا استفاده می‌شود جلبک سبز کلرلا است. در حال حاضر کلرلا، مانند اسپیرولینا عمدتا در فروشگاه‌های مواد غذایی بهداشتی و به عنوان یک غذای ماهی به فروش می‌رسد. یکی دیگر از مهم‌ترین ریزجلبک‌های زیر کشت مدرن *Dunaliella salina* است. این گونه به عنوان یک منبع رنگدانه‌های فتوسنتزی و بتا کاروتن شناخته شده است. بتا کاروتن به عنوان رنگ نارنجی و به به عنوان مکمل ویتامین C مورد استفاده قرار می‌گیرد. ریزجلبک‌ها به ماکارونی، غذاهای سبک و نوشیدنی‌ها و یا به عنوان مکمل‌های تغذیه‌ای و یا رنگ‌های غذایی طبیعی اضافه می‌شوند [۲۲]. زیست توده ریزجلبکی شامل سه جزء اصلی است: پروتئین، کربوهیدرات و چربی [۱۷۸]. جدول ۲-۱ ترکیب زیست توده ریزجلبک های مختلف نشان می‌دهد.

۲-۲-۲- ریزجلبک و مواد آرایشی و بهداشتی

محتوای رنگدانه در ریزجلبک‌ها یکی از ویژگی های خاص هر گونه است. ارزیابی آنها به عنوان اندازه گیری غیرمستقیم رشد سلول و همچنین به عنوان یک پارامتر برای بررسی سطح تغذیه‌ای آب ضروری است. اجزای جلبک ها اغلب در لوازم آرایشی به به عنوان عوامل سفت کننده، عوامل متصل شونده به آب و آنتی اکسیدان‌ها استفاده می‌شود. برخی از گونه‌های ریزجلبکی در بازار مراقبت از پوست مطرح شده‌اند که مهم‌ترین آنها *Arthrospira* و *Chlorella* است [۱۶۹]. عصاره‌های ریزجلبک‌ها را می توان به طور عمده در محصولات مراقبت از پوست و صورت یافت کرد. ریزجلبک‌ها در محصولات حفاظت از نور خورشید و مراقبت از مو نیز وجود دارند. گونه‌های معمولی که برای لوازم آرایشی استفاده می‌شود عبارتند از: *Chondrus crispus*، *Mastocarpus stellatus*،

Nannochloropsis ،*Spirulina platensis* ،*Alaria esculenta* ،*Ascophyllum nodosum*
oculata، *Chlorella vulgaris* و *Dunaliella salina*.

جدول۲- ۱- ترکیب زیست توده جلبک ها که بر اساس ماده خشک بیان شده است [۱۶۹ و ۱۷۳].

گونه	پروتئین	کربوهیدرات	لیپید
Anabaena cylindrica	۵۶-۴۳	۳۰-۲۵	۷-۴
Botryococcus braunii	۴۰	۲	۳۳
Chlamydomonas rheinhardii	۴۸	۱۷	۲۱
Chlorella pyrenoidosa	۵۷	۲۶	۲
Chlorella vulgaris	۵۸-۴۱	۱۷-۱۲	۲۲-۱۰
Dunaliella bioculata	۴۹	۴	۸
Dunaliella salina	۵۷	۳۲	۶
Dunaliella tertiolecta	۲۹	۱۴	۱۱
Euglena gracilis	۶۱-۳۹	۱۸-۱۴	۲۰-۱۴
Porphyridium cruentum	۳۹-۲۸	۵۷-۴۰	۱۴-۹
Prymnesium parvum	۴۵-۲۸	۳۳-۲۵	۳۹-۲۲
Scenedesmus dimorphus	۱۸-۸	۵۲-۲۱	۴۰-۱۶
Scenedesmus obliquus	۵۶-۵۰	۱۷-۱۰	۱۴-۱۲
Scenedesmus quadricauda	۴۷	-	۱،۹
Spirogyra sp.	۲۰-۶	۶۴-۳۳	۲۱-۱۱
Spirulina maxima	۷۱-۶۰	۱۶-۱۳	۷-۶
Spirulina platensis	۶۳-۴۲	۱۴-۸	۱۱-۴
Synechoccus sp.	۶۳	۱۵	۱۱
Tetraselmis maculata	۵۳	۱۵	۳

۲-۲-۳- ریز جلبک ها و رنگ

رنگدانه ریزجلبکی به عنوان رنگ طبیعی مواد غذایی و مواد آرایشی دارای مصارف تجاری است. برخی از ریزجلبک‌ها حاوی مقدار قابل توجهی از کاروتن (علاوه بر بتا کاروتن) هستند. انواع دیگر رنگها نیز در ریزجلبک‌ها وجود دارند. بتا کاروتن به عنوان رنگ‌دهنده غذا (با کاربرد عمده ای در ارائه رنگ زرد به مارگارین) ، به عنوان یک افزودنی غذایی به منظور ارتقاء رنگ گوشت ماهی و زرده تخم مرغ و برای بهبود سلامت و باروری غلات برای تغذیه گاو مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۰]. بتا کاروتن طبیعی دارای خواص فیزیکی است که آن را به نوع مصنوعی ارجح می‌کند. به طور خاص، بتا کاروتن طبیعی محلول در چربی است. اخیرا توسط موسسه ملی سرطان اعلام شد که بتا کاروتن خاصیت ضدسرطانی دارد، مطالعات دیگر نشان داده‌اند که بتا کاروتن در کنترل کلسترول و کاهش خطر بیماری‌های قلبی موثر است. پتانسیل ریزجلبک‌ها به عنوان یک منبع رنگ‌آمیزی برای مواد غذایی محدود است، به دلیل اینکه رنگ غذای مشتق از جلبک پایدار نیست و رنگ آنها با پخت و پز متمایل به سفید می شوند. با این حال، به رغم این محدودیت، هنوز استفاده از ریزجلبک‌ها به منظور رنگ‌آمیزی غذا گسترده است.

۲-۲-۴- ریز جلبک ها و مولکول هایی با ارزش بالا

حداقل ۳۰۰۰۰ گونه های شناخته شده از ریزجلبک‌ها وجود دارد. در حال حاضر تنها تعداد انگشت‌شماری از آنها دارای اهمیت تجاری هستند و به طور کلی برای استخراج اجزای با ارزش بالا مانند رنگدانه‌ها و یا پروتئین کشت داده می شوند. ریزجلبک‌ها یک منبع طبیعی بسیار جالب از ترکیبات جدید با فعالیت بیولوژیکی هستند که می‌توانند به عنوان مواد تشکیل‌دهنده عملکردی مورد استفاده قرار گیرند. در واقع، ریزجلبک‌ها موجودات زنده ای هستند که در زیستگاه‌های پیچیده با شرایط دشوار (برای مثال، تغییرات شوری، درجه حرارت، مواد مغذی، تابش UV-VIS، و غیره) زندگی می کنند. بنابراین آنها باید برای زنده ماندن به سرعت به شرایط جدید زیست محیطی خود را سازگار کنند، انواع زیادی از متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌کنند که در موجودات دیگر یافت نمی‌شود. ریزجلبک‌های دریایی به عنوان یک منبع تجدید پذیر مهم چربی‌های زیست فعال با نسبت بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع (PUFA) شناخته شده‌اند که در جلوگیری و یا درمان بیماری‌های مختلف موثر هستند. شواهد موجود نشان داده است که اسیدهای چرب اشباع نشده (PUFA)، به خصوص PUFA *n*-3 از قبیل اسید لینولنیک، اسید ایکوزاپنتانوئیک، اسید دکوزاپنتونئیک اسید و دوکوزاهگزانوییک اسید در جلوگیری و یا درمان بیماری‌های مختلف از جمله اختلالات قلبی و عروقی ، سرطان، دیابت نوع ۲، اختلالات التهابی روده، آسم، ورم مفاصل، اختلالات کلیه و پوست، افسردگی و اسکیزوفرنی موثر اند. جنس *Dunaliella*، *Chlorella* و *Spirulina* برای تولید غلظت بالایی از ترکیبات با ارزش مانند چربی‌ها، پروتئین‌ها و رنگدانه‌ها استفاده می‌شوند (جدول ۲-۲) [۷، ۹ و ۵۷].

جدول۲-۲- برخی از محصولات زیستی پر ارزش استخراج شده از ریزجلبک ها [۹۷]

محصول	کاربردها	مثال(تولیدکننده)
کاراتنوئیدهای فیکوبیلی پروتئین	رنگدانه‌ها، مواد آرایشی، پروویتامین‌ها و رنگ‌ها	فیکوسیانین (*Spirulina platensis*) بتا کارتن (*Dunaliella salina*) آستازانتین و لئوتین (*Haematococcus pluvialis*)
اسیدهای چرب اشباع نشده	افزودنی‌های غذا	ایکوزاپنتانوئیک اسید (*Chlorella minutissima*) دکوزاهگزانوئیک اسید (*Schizochytrium sp.*) آراشیدونیک اسید (*Parietochlorisincise*)
ویتامین ها	تغذیه	بیوتین (*Euglena gracilis*) ویتامین E (*Euglena gracilisa*) ویتامین C (*Prototheca moriformis, a Chlorella spp. a*)

۲-۲-۵- ریز جلبک ها و سوخت های زیستی

ریزجلبک‌ها به عنوان یک منبع برای تولید سوخت‌های زیستی به دلیل محتوای نفتی بالا و تولید زیست توده به رسمیت شناخته شده‌اند.

جلبک‌ها مزایای بالقوه بسیاری دارند:

جلبک‌ها به طور بالقوه می‌تواند تولیدی در حدود ۱۰۰۰- ۴۰۰۰ گالن / هکتار / سال داشته باشند که به طور معنی داری بالاتر از دانه‌های سویا و دیگر محصولات نفتی است .

آنها با کشاورزی سنتی رقابت نمی‌کنند زیرا آنها از غذاهای سنتی نیستند و می‌توان آنها را در استخرهای بزرگ باز و یا در بیورآکتورهای نوری بسته واقع در زمین‌های غیر قابل کشت پرورش داد.

آنها می‌توانند در طیف گسترده‌ای از شرایط آب و هوایی و آب رشد کنند، همچنین می توانند CO_2 را از منابع مختلف کسب نمایند.

در نهایت، آنها می‌توانند به طیف گسترده‌ای از محصولات از جمله بیودیزل از طریق ترانس استری، دیزل سبز و جایگزین‌های بنزین از طریق تبدیل هیدروترمال کاتالیزوری مستقیم، و ارتقاء کاتالیزوری، و اتانول زیستی از طریق تخمیر، گاز متان از طریق هضم بی‌هوازی، گرما از طریق احتراق و خوراک دام با پروتئین بالا پردازش شوند.

راه های مختلفی برای تبدیل زیست توده ریزجلبکی به منابع انرژی وجود دارد، که می‌تواند به تبدیل بیوشیمیایی ، واکنش‌های شیمیایی، احتراق مستقیم، و تبدیل ترموشیمیایی طبقه بندی شود (جدول ۲-۳).

جدول۲- ۳- محتوای چربی ریزجلبک ها [۴۱]

ریزجلبک	محتوای روغن (٪ وزن خشک)
Botryococcus braunii	۷۵-۲۵
Chlorella sp.	۳۲-۲۸
Crypthecodinium cohnii	۲۰
Cylindrotheca sp.	۳۷-۱۶
Nitzschia sp.	۴۷-۴۵
Phaeodactylum tricornutum	۳۰-۲۰
Schizochytrium sp.	۷۷-۵۰
Tetraselmis suecia	۲۳-۱۵

۲-۳- مصارف صنعتی

۲-۳-۱- استفاده به عنوان کود

ریزجلبک‌ها در کشاورزی به عنوان کودهای بیولوژیک و تهویه خاک به کار گرفته می‌شوند. اکثریت سیانو باکتری ها قادر به تثبیت نیتروژن اتمسفر هستند و به طور موثر به عنوان کودهای بیولوژیک استفاده می‌شوند. سیانو باکتری‌ها نقش مهمی در نگهداری و ایجاد حاصلخیزی خاک و به تبع آن افزایش رشد برنج و محصول به عنوان یک کود طبیعی ایفا می‌کنند [۱۶۳]. پس از آب، نیتروژن عامل محدودکننده برای رشد گیاه در بسیاری از مزارع است و کمبود این عنصر توسط کودها برطرف می‌شود [۱۰۴]. با استفاده از جلبک سبز آبی، علاوه بر افزایش محصول و صرفه‌جویی در مصرف کود نیتروژن، خواص فیزیکی و شیمیایی خاک و کیفیت غلات از نظر محتوای پروتئین بهبود می‌یابد. جلبک سبزآبی متعلق به جنسهای *Nostoc*، *Anabaena*، *Tolypothrix* و *Aulosira* نیتروژن اتمسفر را تثبیت کرده و به عنوان تلقیح برای کاشت برنج در زمین‌های مرتفع و کم رشد استفاده می‌شود. در حال حاضر انواع مختلفی از سیانوباکتری‌ها که زندگی آزاد دارند به عنوان اجزای سازنده و موثر کودهای بیولوژیک سیانوباکتریال شناخته شده است.

۲-۳-۲- استفاده در داروسازی

جلبک‌ها منبعی غنی و نو از متابولیت‌های بیولوژیکی فعال اولیه و ثانویه هستند. این متابولیت‌ها ممکن است ترکیبات فعال زیستی بالقوه در صنعت داروسازی باشند [۱۴۴]. ریزجلبک‌ها حاوی ترکیبات فعال زیستی متعددی

هستند که می‌توانند برای مصارف تجاری استفاده شوند. آنها به عنوان منابع مهم پروتئین به ترکیبات دارویی و تغذیه‌ای افزوده می‌شوند.

ریزجلبک‌ها جاذبه‌ی قابل توجهی به عنوان منبع طبیعی مولکول‌های فعال زیستی دارند، زیرا آنها پتانسیل تولید ترکیبات فعال زیستی در محیط کشت را دارند. ثابت شده است که هر دو عصاره سلولی و عصاره محیط‌های رشد جلبک های تک سلولی (مانند *Chlamydomonas pyrenoidosa*، *Chlorella vulgaris*)، در محیط‌های آزمایشگاهی در برابر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی فعالیت ضد میکروبی دارند. همچنین طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های ضد قارچ در شرایط آزمایشگاهی از عصاره جلبک سبز، دیاتوم‌ها و دینوفلاژلاته ها گزارش شده است. برخی از ریزجلبک‌ها مانند *Ochromonas* SP. ، *Prymnesium parvum* و تعدادی از جلبک سبزآبی مواد سمی تولید می‌کنند که ممکن است مصارف دارویی داشته باشند [۳۱ و ۸۹]. گونه‌های مختلفی از سیانوباکتری‌ها شناخته شده است که متابولیت‌های داخل سلولی و خارج سلولی با فعالیت های متنوع بیولوژیکی مانند فعالیت ضد باکتری، ضد قارچ و ضد ویروس و ضد جلبک تولید می‌کنند. دمای انکوباسیون، pH محیط کشت، طول دوره انکوباسیون، ترکیبات محیط کشت و شدت نور عوامل موثر بر تولید آنتی‌بیوتیک هستند [۱۱۹].

۲-۳-۳- استفاده به عنوان خوراک آبزیان

در حال حاضر ریزجلبک‌ها عمدتا برای کشت لارو ماهیان، سخت‌پوستان و نرم‌تنان و همچنین برای افزایش زئوپلانکتون‌های مورد نیاز برای تغذیه حیوانات استفاده می‌شود [۳۹]. اغلب گونه‌های مورد استفاده در آبزی‌پروری *Chlorella*، *Tetraselmis*، *Isochrysis*، *Pavlova*، *Phaeodactylum*، *Chaetoceros*، *Nannochloropsis*، *Skeletonema* و *Thalassiosira* هستند. به طور عمده از جلبک Spirulina و تا حدی *Chlorella* برای پرورش بسیاری از حیوانات نظیر گربه، سگ، ماهی‌های زینتی، پرندگان زینتی، اسب، مرغ، گاو استفاده می‌شود [۱۶۴]. جنس‌های مورد علاقه لارو آبزیان شامل *Chaetoceros Thalassiosira*، *Tetraselmis*، *Isochrysis* و *Nannochloropsis* است. این ارگانیسم‌ها به طور مستقیم و یا غیرمستقیم برای تغذیه لاروها استفاده می‌شود. منظور از غیرمستقیم ارائه جلبک از طریق روتیفرها، آرتمیا و دافنی است. برخی از نمونه‌های ریزجلبک‌ها شامل گونه ریزجلبک *Hypneacervicornis* و *Cryptonemia crenulata* که غنی از پروتئین هستند در جیره غذایی میگو مورد آزمایش قرار گرفته است [۴۷]. برخی از ریزجلبک‌ها مانند *Dunaliella salina*، *Haematococcus pluvialis* و *Spirulina* نیز به عنوان منبعی از رنگدانه‌های طبیعی برای کشت میگو، ماهی و ماهی زینتی استفاده می‌شود. در طول چهار دهه گذشته، چند صد گونه از ریزجلبک به عنوان غذا مورد آزمایش قرار گرفته‌اند، اما احتمالا کمتر از بیست گونه آن ها به طور گسترده‌ای در آبزی‌پروری استفاده می‌شوند.

۲-۴- کاربرد ریزجلبک ها در پایش بیولوژیکی

با افزایش آلودگی اکوسیستم‌های آبی توسط فلزات سمی و با توجه به قرار گرفتن ریز جلبک‌ها در زنجیره غذایی، مطالعات اکوتوکسیکولوژی برای طراحی استراتژی‌های بازسازی و پایش زیست محیطی حائز اهمیت است [۱۱۲]. تغییرات در شرایط زیست محیطی اغلب به راحتی و به سرعت توسط موجودات تک‌سلولی شناخته شده و به طور کلی موجودات ساده تر از نظر ساختار می‌توانند عکس‌العمل سریعتری نسبت به موجودات با ساختار پیچیده‌تر