

# تعیین میزان تجمع عناصر سنگین (Pb/Cu) در دو جنس از جلبکهای سبز-آبی (اسیلاتوریا و آنابینا) از رودخانه سیاهرود

● غلامرضا امینی رنجبر، عضو هیأت علمی وزارت جهاد سازندگی  
● فریبا ایلخانی، کارشناس ارشد آلودگی دریا

تاریخ دریافت: دیماه ۱۳۷۸ تاریخ پذیرش: مردادماه ۱۳۷۹

## مقدمه

امروزه با گسترش شهرها و فن آوری و افزایش صنایع، میزان فاضلاب تولید شده روز بروز فزونی می‌یابد. پساب‌هایی که از صنایع مختلف وارد آبها می‌گردند عموماً حاوی شش نوع ماده آلوده کننده اصلی هستند، مواد معلق، مواد آلی، مواد معدنی، نمکهای محلول فلزات سنگین، باکتریها و ویروسها که اکثر آنها مانند مواد آلی مورد تجزیه زیستی قرار می‌گیرند و برخی همانند فلزات سنگین و مواد آلی مصنوعی در زمره عناصر پایدار بوده، معمولاً تجزیه آنها مدت‌های مدیدی به طول می‌انجامد. از میان این مواد آلاینده فلزات سنگین به علت اثرات سمی و توان تجمع زیستی در گونه‌های مختلف آبزیان و حتی امکان بروز پدیده بزرگنمایی زیستی آنها در طول زنجیره غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. جلبکها و یا به عبارت کلی ترفیتوپلانکتونها حلقه اساسی زنجیره غذایی آبها می‌باشند، لذا با ازدیاد روزافزون دانش در زمینه خصوصیات زیست محیطی، نیازهای بوم شناختی، تأثیر عوامل محیطی و زیستی سبب شده که محققان با کشت و پرورش گونه معین و خالص‌سازی آن به اهداف تحقیقاتی خود در زمینه‌های بهداشتی، اقتصادی و دارویی نایل گردند. کشت و پرورش جلبک نتایج قابل توجهی در بر دارد، از جمله کشف ارزش غذایی گونه‌هایی از جلبک، استفاده به منظور کاهش آلاینده‌های فاضلاب، مصارف دارویی، تهیه هورمونهای گیاهی مانند اکسین، جیبرلین و تهیه ویتامین. از خالص‌سازی جلبک در آینده استفاده بسیار خواهد شد و امکان اینکه در رژیم غذایی انسان به طور مستقیم قرار گیرند بسیار است، البته در حال حاضر غذای سایر جانوران می‌باشند. جلبک‌ها طی فرآیندهای بیوشیمیایی قادر به تصفیه آب هستند. با توجه به اهمیت گیاهان آبزی در اکوسیستم‌های آبی، امروزه امکان استفاده از این جلبکها در سیستم‌های فاضلابی به عنوان صافی‌ها و جاذب‌های زیستی بسیار مورد توجه بوده است. کاربرد این روش سبب

## ✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 48 PP: 110-113

### Determination of heavy metals (Pb/Cu) in two species of blue - green algae from Siahrood river

By: Gh. Amini - Ranjbar, Ph.D., Scientific Staff of Iranian Fisheries Research Institute; Ilkhani F., Marine Pollution M.Sc.

This research has been conducted with objective of measuring the low quantities of heavy metals (Pb/Cu) in two genus of green - blue algae, namely anabaena and oscillatoria. After recognising and sampling the mentioned algae from Siahrood (Ghaem-Shahr) station and put them in suitable condition such as nutrition materials, temprature and light, different concentrations: 2, 4, 6 & 8 mg/lit (PPM) of copper and lead were added in the algae culture pot and then were sampled during first, third, fifth, seventh days, and measured the concentration of the heavy metals by atomic absorption spectrophotometric (AA-680 Shimatzu). In general view, the amount of absorption of metals correlated positively with time and increasing of concentration and have upward trend. So that they reach the maximum level in fifth day, and have down trend in seventh day they constitute as a mass of death algae, and during this day the concentration of the metals in solution and sample of mass aglae were measured. In seventh day, all amount of algae mass separated, measured, dried, powdered and then soluted in nitric acid & chloridric acid (3:1) and then filtered in order to determine amount of these elements and then measured by atomic absorption spectrophotmeter.

Key words: Heavy metals, Blue-Green Algae, Digestion method, A.A.S., Siahrood river.

## چکیده

در این تحقیق که هدف اندازه‌گیری عناصر سنگین (Cu/Pb) در دو جنس از جلبکهای سبز-آبی رودخانه سیاهرود قانم شهر مشتمل بر آنابینا و اسیلاتوریا بودند بعد از شناسایی و نمونه‌برداری از نمونه‌های مذکور از ایستگاههای مورد نظر و انتقال به آزمایشگاه و قراردادن در شرایط محیطی مناسبی از نظر مواد غذایی، دما، نور، غلظتهای ۲، ۴، ۶، ۸ میلی‌گرم در لیتر (PPM) از فلزات مس و سرب به محیط‌های کشت جلبک افزوده شد. برای اندازه‌گیری میزان عناصر جذب شده توسط بافت جلبکها و از طرفی از بین بردن ترکیبات آلی نمونه از روش هضم اسیدی با استفاده از مخلوط اسیدنیتریک و اسید کلریدریک به نسبت ۳:۱ و دستگاه جذب اتمی شعله‌ای مدل AA-680 شیماتزو انجام گردید. این مطالعه نشان داد که میزان جذب عناصر همراه با گذشت زمان از روز اول تا پنجم به حداکثر خود رسیده و در روز هفتم جذب کاهش یافته و به مرگ جلبکها و تولید توده جلبکی منتج گردید. همچنین نتایج حاصل از آنالیز رگرسیون نشان دهنده افزایش میزان جذب در عناصر همراه با گذشت زمان می‌باشد.

کلمات کلیدی: عناصر سنگین، جلبکهای سبز-آبی، روش هضم اسیدی، دستگاه جذب اتمی، رودخانه سیاهرود.



جدول شماره ۱- شرایط دستگاهی جهت اندازه گیری غلظت فلزات (Pb/Cu)

شعله	طول موج (nm)	پهنای شکاف (nm)	شدت جریان mR	عناصر
هوا- سازمان	۳۲۴/۸	۰/۲-۰/۵	۵	Cu
هوا- سازمان	۲۸۳/۳	۰/۷	۴	Pb

جدول شماره ۲- غلظت های فلز موجود در محلولهای نمونه بر حسب PPM در روزهای اول تا هفتم

نمونه	روز هفتم	روز پنجم		روز سوم		روز اول		غلظت فلزات (PPM)
		نمونه اول	نمونه دوم	نمونه اول	نمونه دوم	نمونه اول	نمونه دوم	
Pb	۰/۰۰۳۰	۰/۰۰۳۰	۰/۰۰۲۰	۰/۰۰۳۰	۰/۰۰۴۰	۰/۰۰۵۰	۰/۲۴۴۳	۰/۲۵۷۱
	۰/۰۰۴۰	۰/۰۰۳۰	۰/۰۰۲۰	۰/۰۰۳۰	۰/۰۰۲۶	۰/۰۰۵۴	۰/۴۳۶۴	۰/۴۳۳۴
	۰/۰۰۲۰	۰/۰۱۰۰	۰/۰۰۷۰	۰/۰۱۰۰	۰/۰۲۶۵۵	۰/۰۲۱۰۴	۰/۶۰۰۱	۰/۶۷۲۱
	۰/۱۲۲۱	۰/۱۴۱۴	۰/۲۶۳۳	۰/۱۶۰۰	۰/۳۴۸۳	۰/۴۵۰۰	۰/۸۲۶۴	۰/۸۲۱۲
Cu	۰/۰۲۰۰	۰/۰۱۰۴	۰/۰۵۵۰	۰/۰۸۰۰	۰/۱۲۶۱	۰/۱۲۷۳	۰/۱۸۲۳	۰/۱۸۴۳
	۰/۰۴۷۳	۰/۰۳۰۲	۰/۱۶۴۳	۰/۱۲۲۷	۰/۲۱۲۱	۰/۲۲۰۰	۰/۵۶۱۳	۰/۵۸۲۰
	۰/۰۴۹۴	۰/۰۵۵۴	۰/۱۸۲۷	۰/۱۷۴۶	۰/۲۱۵۶	۰/۳۳۳۲	۰/۸۳۱۵	۰/۸۵۷۰
	۰/۱۴۴۷	۰/۱۵۱۳	۰/۲۴۴۰	۰/۲۳۰۲	۰/۴۰۲۶	۰/۴۳۰۴	۱/۳۴۱۰	۱/۱۲۱۷۰
	-	۰/۵۶۵	-	۰/۴۱۰۰	-	۰/۶۰۰۰	-	۱/۸۰۰۰

\* لازم به ذکر است که اعداد مذکور میانگین سه بار اندازه گیری می باشد.

جدول شماره ۳- مقدار فلزات Cu/Pb در بافت جلبک در روز هفتم

	مقدار فلز موجود در جلبک	
	مقدار فلز موجود از جلبک (نمونه دوم)	غلظت فلزات (PPM)
Pb	۳۱۰/۰۱	۲۴۷/۳۱
	۴۲۰/۲۴	۴۰۶/۵۷
	۸۲۰/۱۳	۶۳۲/۴۱
	۱۰۰۴/۱۰	۱۰۷۰/۵۰
Cu	۹۸۳/۱۰	۹۷۰/۶۱
	۱۰۴۰/۳۱	۱۰۱۶/۶۱
	۱۱۳۳/۲۰	۱۱۳۶/۵۵
	۱۲۵۴/۴۱	۱۲۴۴/۱۶

\* نتایج میانگین سه عدد می باشند.

راستای دوره رشد جلبکها بوده به طوریکه پس از طی مدت زمان پنج روز که حداکثر رشد جلبکی مشاهده می شود حداکثر میزان جذب نیز مشاهده می گردد. در روز هفتم با از میان رفتن سلولهای جلبکی میزان جذب ثابت و سپس روندی نزولی را طی می کند و مقداری از فلزات تجمع یافته به محیط باز پس داده می شوند و اگر هم میزانی از جذب وجود داشته باشد احتمالاً به دلیل توانایی جذب دیواره سلولی جلبک در جذب عناصر حتی پس از مرگ می باشد (شکل های ۱ و ۲). در روز هفتم علاوه بر اندازه گیری میزان فلزات در محلولهای جلبکی میزان فلزات در خود نمونه های جلبک نیز بررسی گردیده است (جدول شماره ۳). مقایسه مقادیر جدول ۳ با نتایج مطالعه Kiyko و Pogrebov (۱۱) که جذب فلزات سرب و مس توسط جلبکها دامنه های بین ۰/۳-۲/۱ میلی گرم بر گرم برای فلز مس و ۰/۲-۲/۰ میلی گرم بر گرم برای فلز سرب دارد نشان دهنده

گردیدند و سرانجام توسط AAS آنالیز شدند. لازم به ذکر است که در روز هفتم جهت محاسبه مقدار فلزات موجود در بافت جلبک بر حسب ppm وزن خشک از رابطه زیر استفاده شد.

$$\text{غلظت فلز موجود در بافت جلبک بر حسب وزن خشک} = \frac{\text{حجم بالن (مدرج)} \times V}{\text{وزن خشک نمونه (ها)}} \times C$$

(غلظت دستگاه) \* (غلظت دستگاه) = C

## بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق اثرات فاکتورهای غلظت، نوع فلز و زمان جذب مورد بررسی قرار گرفت. اثرات ساده زمان بیانگر افزایش جذب عناصر همراه با گذشت زمان دارد، همچنین با افزایش غلظت عناصر میزان جذب در جلبکها نیز افزایش می یابد، این افزایش جذب در

تصفیه هر چه بیشتر فاضلابها و همچنین کارایی زیست محیطی بیشتر می گردد و ضمن استفاده از منابع طبیعی می توان به بازیابی فلزات ارزشمند نیز اقدام نمود (۱ و ۲).

## مواد و روشها

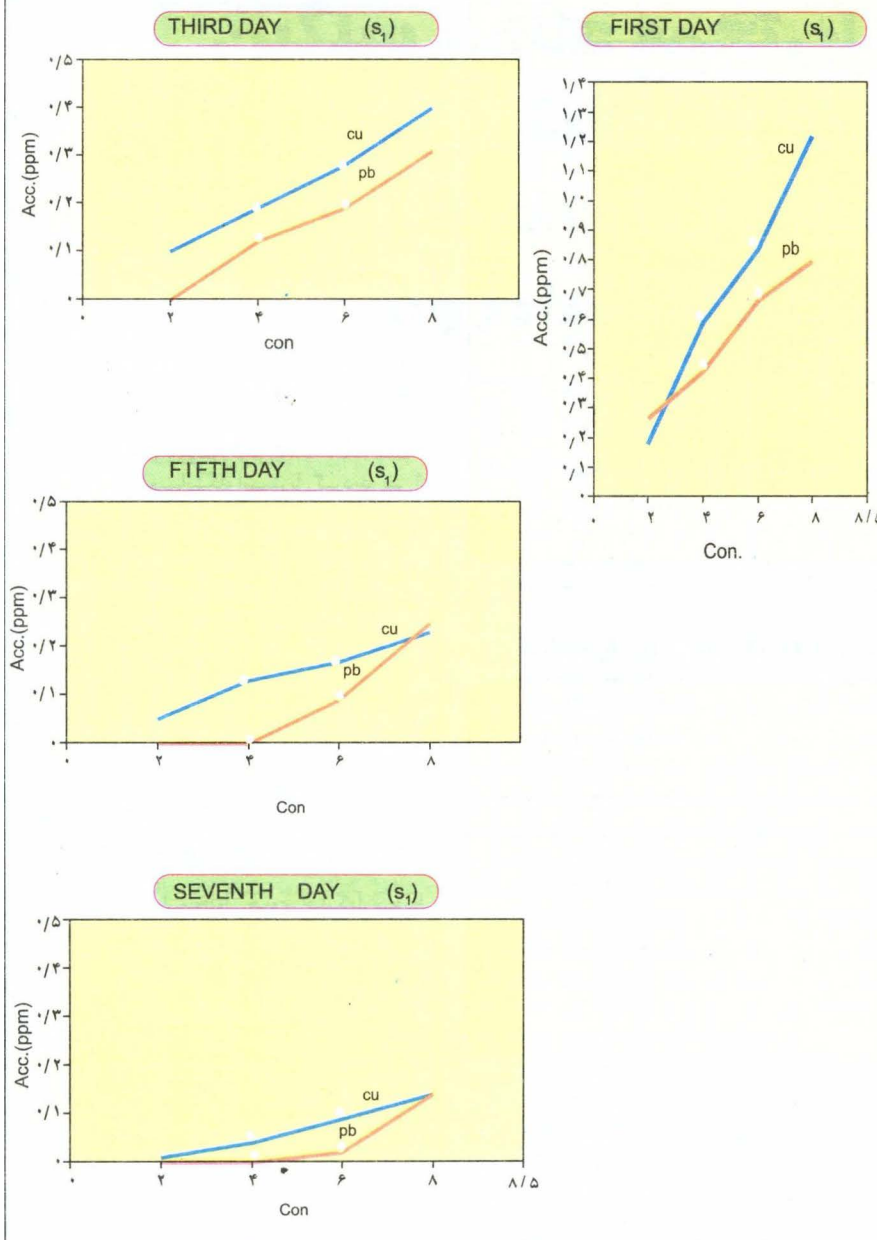
نمونه برداری توسط تورپلانکتون گیری با چشمه ۶۰ میکرون انجام شد. جهت جمع آوری نمونه ها از ظروف پلاستیکی استفاده گردید که این ظروف قبلاً در آزمایشگاه با اسیدنیتريك شستشو گردیدند. نمونه برداری صرفاً به دلیل شناسایی گونه هایی از جلبکهای سبز - آبی که در آب رودخانه سیاه رود غالب بودند، صورت گرفت.

در کلیه آزمایشات از مواد شیمیایی با درجه خلوص بالا از شرکت مرک (Merck) آلمان استفاده گردید.

قبل از شروع کار با روشن کردن لامپ UV به مدت ۵ الی ۲۰ دقیقه آزمایشگاه استریل گردید. پس از آماده سازی ظروف آزمایشگاهی شروع به شناسایی جلبکهای مورد نظر و خالص سازی آنها و سپس کشت گردید. جلبکها در محیط کشت Z<sub>۸</sub> (۱) و طی مدت دو هفته به رشد و شکوفایی رسیدند. بعد از شکوفایی به هر یک از ارین های حاوی جلبک و محیط کشت از محلولهای استاندارد فلزات مس و سرب که در غلظت های ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ و ۰/۸ میلی گرم در لیتر تهیه شده اند به میزان ۱۰۰ ml به طور جداگانه افزوده شد و برای هر غلظت در هر دوره دو محیط کشت تهیه گردید و هر بار سه مرتبه عناصر مذکور توسط دستگاه جذب اتمی تعیین گردید. همچنین گروهی از جلبکها به عنوان گروه شاهد بدون افزودن هیچیک از فلزات کشت داده شدند.

هر روز مقداری از محلول حاوی جلبکها، محیط کشت و فلزات برداشته شده و جهت بررسی میزان کاهش فلزات مس و سرب مورد سنجش قرار می گرفتند که به علت کاهش قابل توجه در روزهای فرد پس از کشت روزهای اول و سوم، پنجم و هفتم به عنوان شاخص انتخاب گردیدند. با توجه به کاهش میزان فلز مس و سرب در محلولهای حاوی جلبک می توان به میزان تجمع آنها توسط جلبکها پی برد (جدول شماره ۱). برای تعیین میزان فلزات موجود در بافت جلبک از روشهای مختلف هضم از جمله هضم خشک (۹)، هضم اسیدی یا تر (۳)، هضم به روش گداز (۱۰) استفاده گردید و سرانجام بهترین روش هضم اسیدی انتخاب گردید. قبل از شروع به کار کلیه ظروف شسته شده و در کوره خشک گردیدند و پس از قرار دادن در دسیکاتور با دقت یک هزارم گرم توزین شدند (۴ و ۵). سپس نمونه های جلبک (آبابتنا = نمونه اول و اسیلاتوریا = نمونه دوم) را صاف کرده و دوبار با آب مقطر شسته شدند و در کوره الکتریکی به مدت ۱ ساعت در دمای ۱۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و سپس مجدداً توزین گردید. سپس حدود ۰/۲ گرم از جلبکها توزین شده و هضم اسیدی گردید. پس از سرد شدن توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ صاف گردید و با استفاده از آب مقطر دوباره تقطیر شده در بالن های ۲۵ ml به حجم رسید. سپس نمونه ها در داخل بطریهای پلی اتیلن واجد بر حسب مشخصات وارد

شکل شماره ۱- منحنی های میزان جذب فلز مس و سرب در غلظت‌ها و روزهای مختلف برای نمونه اول (S<sub>1</sub>)



همسویی نتایج به دست آمده در این تحقق می‌باشد. برای به دست آوردن بهترین رابطه بین متغیر مستقل و وابسته از روش‌های رگرسیون استفاده گردید (جدول ۴ و ۵). معادلات رگرسیونی دارای میزان ضریبی همبستگی بالایی می‌باشند. میزان جذب نمونه‌ها با غلظت‌های مختلف در روزهای اول تا هفتم به صورت گراف نشان داده شده است (شکل ۱ و ۲). همانطور که در گراف نمونه اول مشاهده می‌شود میزان جذب با افزایش غلظت رابطه‌ای خطی و مستقیم دارد که در روز اول حداکثر بوده و در روزهای بعد بتدریج کاهش می‌یابد. در معاملات رگرسیونی عدد ثابت معادلات با افزایش غلظت افزایش یافته که بیانگر درستی و صحت اندازه‌گیریها می‌باشد. تحقیقات زیادی در این زمینه در ایران و جهان انجام یافته است از جمله در گروه میکروبیولوژی دانشگاه South campus دهلی جذب  $Cu^{+2}$  توسط اسپلاتوریا مورد بررسی قرار گرفته است، در این بررسی مشخص گردید که با زیاد شدن غلظت  $Cu^{+2}$  جذب زیاد می‌شود و جذب تا حدود زیادی وابسته به pH است و حداکثر جذب در  $pH=5$  صورت می‌گیرد. وجود یونهای  $Cu^{+2}$  و  $Mg^{+2}$  جذب  $Cu^{+2}$  را کاهش می‌دهند. این گونه‌ها مس را به طور مؤثری تا حدود  $68/4 mgr/gr$  در  $pH 3/45$  جذب می‌کنند (۶). در مقاله دیگری از کشور مالزی جذب و تجمع کادمیوم در آنابینا بررسی شده است و میزان جذب کادمیوم ۴۳ درصد تا ۶۰ درصد تعیین شده است. بیشترین جذب در پائین‌ترین غلظت Cd مشخص گردیده است (۷). در مطالعه دیگری جذب فلزات توسط سیانو باکتری (Cyanobacteria) مشخص گردیده است، میزان جذب به این صورت کاهش می‌یابد. Cu. Ni. Pb. و Cr. بیشترین جذب در ۱۵ دقیقه ظاهر می‌شود و به طور مؤثری به pH وابسته است. جذب مس به حضور کاتیونهای دیگر وابسته است (۸). مطالعات و تحقیقات وسیعی در مورد استفاده از گیاهان آبزی در جذب عناصری مانند طلا و نقره و سایر فلزات ارزشمند و دیگر فاضلابهایی که قبلاً پالایش شده است نیز در دست اجرا می‌باشد.

### سپاسگزاری

از آقایان دکتر ربانی و دکتر حسینی و کلیه کارشناسان مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران که ما را در انجام این تحقیق یاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

جدول شماره ۴- معادلات رگرسیونی میزان جذب غلظت‌های مختلف فلز سرب توسط جلبک‌های S<sub>1</sub> و S<sub>2</sub>

نوع و نمونه فلز	معادلات رگرسیونی	Constant	X Coefficient	R. Squared	No. of Observation	Degree of freedom
Cu. ۲PPm, S <sub>1</sub>	$Y = -0.028X + 0.2199$	0.2199	-0.028	0.6063	4	3
Cu. 4PPm, S <sub>1</sub>	$Y = -0.0707X + 0.4223$	0.4223	-0.0707	0.8069	4	3
Cu. 6PPm, S <sub>1</sub>	$Y = -0.1045X + 0.6674$	0.6674	-0.1045	0.8459	4	3
Cu. 8PPm, S <sub>1</sub>	$Y = -0.1065X + 0.8190$	0.8190	-0.1065	0.8517	4	3
Cu. ۲PPm, S <sub>2</sub>	$Y = -0.0361X + 0.2077$	0.2077	-0.0361	0.6033	4	3
Cu. 4PPm, S <sub>2</sub>	$Y = -0.0712X + 0.4275$	0.4275	-0.0712	0.8087	4	3
Cu. 6PPm, S <sub>2</sub>	$Y = -0.0968X + 0.6261$	0.6261	-0.0968	0.9025	4	3
Cu. 8PPm, S <sub>2</sub>	$Y = -0.1099X + 0.8246$	0.8246	-0.1099	0.8521	4	3

اسپلاتوریا = S<sub>2</sub> و آنابینا = S<sub>1</sub> ۱۰



**منابع مورد استفاده**

۱- محسنی زاده- فاطمه، ۱۳۷۶. گزارش کارگاه آموزشی کشت جلبک - مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران.

۲- کنشلو- طیبیه، امینی رنجبر- غلامرضا، ۱۳۷۶. ارزیابی کمی آلاینده‌های معدنی در چهارگونه از گیاهان آبی تالاب انزلی - دانشکده علوم و فنون دریایی واحد تهران شمال.

3- John, Vanloon, 1985. selected methods of trace metal analysis, biological and environmental samples, pp: (83, 27), (113-167).

4- FAO. IAEA, ioc, 1984, Methods for marine pollution studies No.7, Rev 2, UNEP.

5- Greenberg, A.E., Lenore S. Clescerl; A.D. Eaten, 1992. Standard methods for examination of water and wastewater. American public health association.

6- Ahug Coupta Saxena, 1997. Oscillatoria an guistissima: A promising cu super (+2) Biosorbent - CURR - MICROBIOL no.3, PP: (151-154).

7- Mushrifah, L., Peterson, P.J., 1991. Uptake and accumulation of cadmium and tin to the insoluble fractions of anabaena flos - aquae. Biomed, lett. Vol. 96, no. 183,, PP: (189-198).

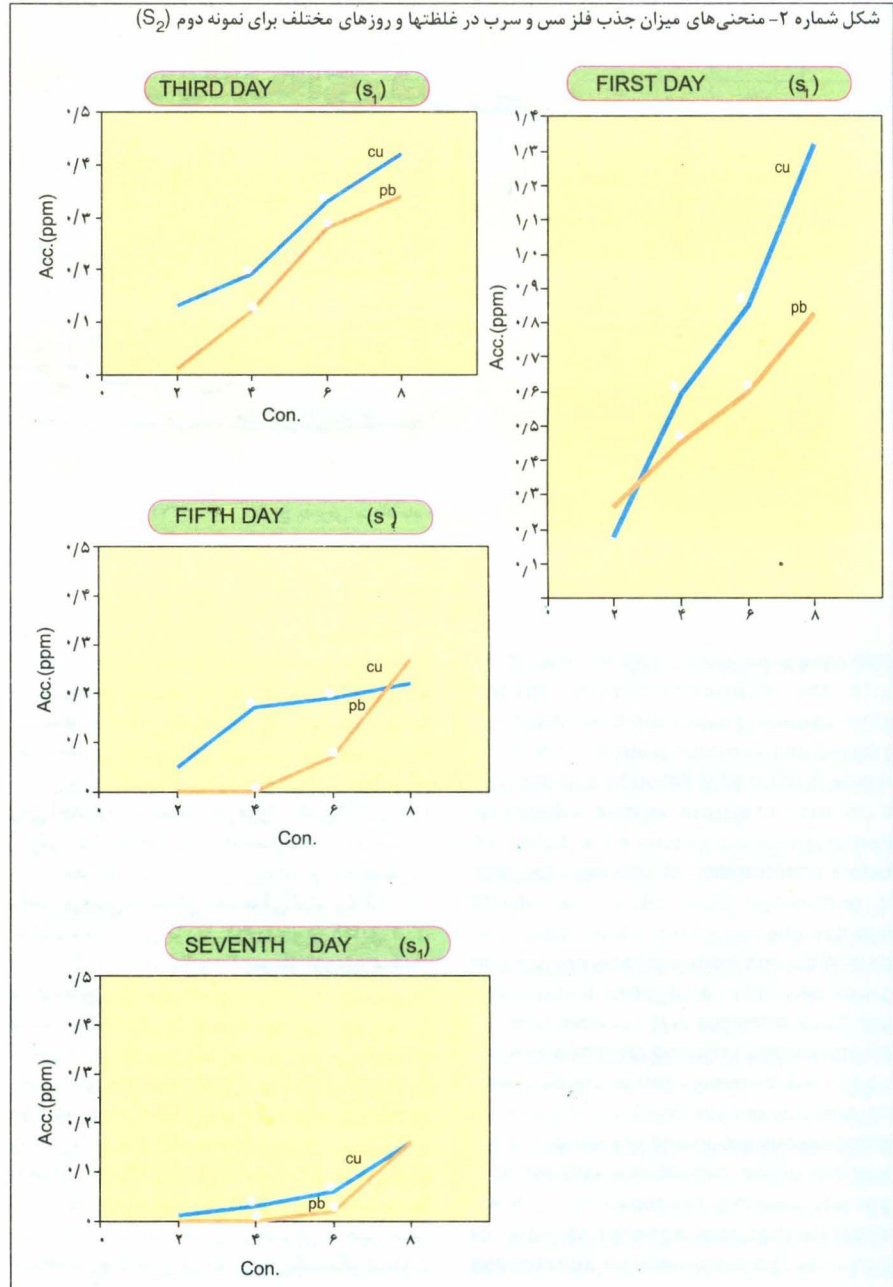
8- Gloaguen, V., Moruan, M., Hoffmann, L., 1996. Metal accumulate by immobilized cyanobacterial mats from a thermal spring.; J. Environ. Sci. HEALTH, part A; Environ SCL., ENG. Toxic - Hazard subst. Control Vol. A 31, No.10, PP:2437-2451.

9- Hoenig. M., Deborger, R., 1993. Particular problems encountered in trace metal analysis of plant material by atomic absorption spectrometry spectrochimica Acta Vol. 388, PP:873-880.

10- Facchetti, S., 1983. Joint research center Ipraitaly, analytical techniques for heavymetals in biological fluids.

11- Kiyko, O.A. & Pogrebov, V.B., 1997. Persistent organic pollutant, trace metal and radionuclide concentrats in bottom organisms of the barents sea and adjacent areas, Marine pollution bulletin, Vol. 35, NOS, 7.12, PP:340-344.

شکل شماره ۲- منحنی‌های میزان جذب فلز مس و سرب در غلظت‌ها و روزهای مختلف برای نمونه دوم (S<sub>2</sub>)



جدول شماره ۴- معادلات رگرسیونی میزان جذب غلظت‌های مختلف فلز سرب توسط جلبک‌های S<sub>1</sub> و S<sub>2</sub>

نوع و نمونه فلز	معادلات رگرسیونی	Constant	X Coefficient	R. Squared	No. of Observation	Degree of freedom
Cu. ۲PPm, S <sub>1</sub>	Y=-۰/۰۲۸X+۰/۲۱۹۹	۰/۲۱۹۹	-۰/۰۳۸	۰/۶۰۶۳	۴	۳
Cu. ۴PPm, S <sub>1</sub>	Y=-۰/۰۷۰۷X+۰/۴۲۲۳	۰/۴۲۲۳	-۰/۰۷۰۷	۰/۸۰۶۹	۴	۳
Cu. ۶PPm, S <sub>1</sub>	Y=-۰/۰۴۵X+۰/۶۶۷۴	۰/۶۶۷۴	-۰/۰۴۵	۰/۸۴۵۹	۴	۳
Cu. ۸PPm, S <sub>1</sub>	Y=-۰/۰۶۵X+۰/۸۱۹۰	۰/۸۱۹۰	-۰/۰۶۵	۰/۸۵۱۷	۴	۳
Cu. ۲PPm, S <sub>2</sub>	Y=-۰/۰۳۶۱X+۰/۲۰۷۷	۰/۲۰۷۷	-۰/۰۳۶۱	۰/۶۰۳۳	۴	۳
Cu. ۴PPm, S <sub>2</sub>	Y=-۰/۰۷۱۲۴X+۰/۴۲۲۵	۰/۴۲۲۵	-۰/۰۷۱۲۴	۰/۸۰۸۷	۴	۳
Cu. ۶PPm, S <sub>2</sub>	Y=-۰/۰۹۶۸X+۰/۶۲۶۱	۰/۶۲۶۱	-۰/۰۹۶۸	۰/۹۰۲۵	۴	۳
Cu. ۸PPm, S <sub>2</sub>	Y=-۰/۰۹۹X+۰/۸۳۴۶	۰/۸۳۴۶	-۰/۰۹۹	۰/۸۵۲۱	۴	۳

اسیلاتوریا S<sub>2</sub> و آنابینا S<sub>1</sub> ۱۰