بررسی اثر سطوح نیتروژن، فسفر و دوره نوری بر رشد و چربی ریزجلبک *Chlorella vulgaris* با استفاده از رویه سطح پاسخ

حامد مقدس زاده و آریا وزیرزاده

چکیده

در این پژوهش، تاثیر عوامل محیطی و تغذیه‌ای نیترات (۲۲۵۰ – ۷۵۰ میلی‌گرم بر لیتر)، فسفات (۶۰ – ۲۰) و دوره‌ی نوری (۲۴ – ۸) بر تغییر ترکیبات بیوشیمیایی و نرخ رشد ریزجلبک *Chlorella vulgaris* مورد بررسی قرار گرفت. طراحی این آزمایش با استفاده از طرح آزمایش رویه‌ی سطح پاسخ (RSM) و روش طراحی مرکب مرکزی صورت گرفت. حداکثر نرخ رشد تحت تاثیر عوامل محیطی، دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی، غلظت اولیه‌ی نیترات (۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و غلظت اولیه‌ی فسفات (۴۰ میلی‌گرم بر لیتر) حاصل شد. همچنین حداکثر میزان چربی کل تحت تاثیر عوامل محیطی، دوره‌ی نوری ۲۴ ساعت روشنایی، غلظت اولیه‌ی نیترات (۷۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و غلظت اولیه‌ی فسفات (۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) حاصل شد. غلظت‌های بهینه‌ی نیترات و فسفات جهت دستیابی به حداکثر تراکم سلولی، کلروفیل کل، چربی کل، حذف نیترات و حذف فسفات مورد بررسی قرار گرفت. برای دیگر متغیرهای مورد بررسی، میزان بهینه‌ی نور ۱۶ ساعت روشنایی اندازه‌گیری شد. این مطالعه نشان داد که تغییر عوامل محیطی و تغذیه‌ای، ترکیبات بیوشیمیایی ریزجلبک *C. vulgaris* را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

مواد و روش ها

طراحی این آزمایش با استفاده از طرح آزمایش رویه‌ی سطح پاسخ (RSM) و روش طراحی مرکب مرکزی صورت گرفت. تجزیه و تحلیل آزمون واریانس داده‌ها برای اعتبار سنجی مدل‌های پیشنهادی انجام شد. معنی‌دار بودن مقادیر P- value مدل (کمتر از ۵ درصد) و بی معنی‌دار بودن شاخص عدم برازش (lack of fit بزرگتر از ۵ درصد) برای تمام مدل‌ها نشان‌دهنده‌ی اعتبار آنها بود. شمارش سلول‌ها به دو روش لام هموسایتومتر و کدورت سنجی انجام شد (فرامرزی و همکاران، ۱۳۸۹).
اندازه گیری حذف نیترات و فسفات به روش Greenberg Arnold و ClesceriLenore (۱۹۹۲) انجام شد (Greenberg Arnold & Clesceri Lenore, 1992). سنجش چربی کل به کمک حلال های آب مقطر، کلروفرم و متانول انجام شد. اندازه‌گیری میزان کلروفیل در نمونه‌ها با استفاده از حلال دی متیل فرمامید (DMF) و قرائت جذب نمونه‌ها به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۷ و ۶۶۴/۵ نانومتر انجام شد (Chen & Pei, 2016).

نتایج

بر طبق نتایج به‌دست آمده ، با افزایش غلظت اولیه‌ی نیترات تا ۱۵۰۰ میلی گرم بر لیتر، تعداد سلول ریزجلبک افزایش می‌یابد اما در ادامه با افزایش غلظت اولیه‌ی نیترات تعداد سلول ریزجلبک کاهش می‌یابد. درحالی‌که با افزایش غلظت اولیه‌ی فسفات از ۲۰ به ۴۰ میلی گرم بر لیتر، تعداد سلول ریزجلبک کاهش می‌یابد اما با افزایش غلظت اولیه‌ی فسفات از ۴۰ به ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر تعداد سلول‌های ریزجلبک افزایش می‌یابد به‌طوری‌که بیشترین تعداد سلول ریزجلبک زمانی است که غلظت فسفات در حد بیشینه باشد. با افزایش دوره‌ی نوری تا ساعت۱۸ نرخ رشد و تعداد سلول‌ها افزایش می‌یابد و پس از آن روند نزولی در تعداد سلول ریزجلبک‌ها مشاهده می‌شود.
با افزایش دوره‌ی نوری تا حدود ۱۸ ساعت، میزان کلروفیل افزایش یافته و پس از آن کاهش می‌یابد. افزایش دوره‌ی نوری باعث افزایش نرخ رشد و افزایش فتوسنتز شده، در نتیجه افزایش تعداد سلول باعث افزایش میزان کلروفیل می‌شود. بالاترین میزان کلروفیل زمانی مشاهده می‌شود که غلظت اولیه‌ی نیترات (۷۵۰ میلی‌گرم بر لیتر)، غلظت اولیه‌ی فسفات (۴۰ میلی‌گرم بر لیتر) و دوره‌ی نوری (۱۶ساعت) باشد.
برهم کنش غلظت اولیه‌ی نیترات و دوره‌ی نوری بر درصد کارایی حذف نیترات نشان می‌دهد که با افزایش دوره نوری تا ساعت ۱۶ ، درصد کارایی حذف نیترات با شیب ملایمی افزایش می‌یابد همچنین با افزایش غلظت اولیه‌ی نیترات درصد کارایی حذف نیترات افزایش می‌یابد و در ادامه با شیب ملایمی کاهش می‌یابد. برهم کنش غلظت اولیه‌ی فسفات و دوره‌ی نوری بر درصد کارایی حذف نیترات نشان می‌دهد با افزایش غلظت اولیه‌ی فسفات درصد کارایی حذف نیترات کاهش می‌یابد و در ادامه

افزایش می‌یابد و با افزایش دوره‌ی نوری تا ۱۶ ساعت، درصد کارایی حذف نیترات افزایش می‌یابد و در ادامه با شیب ملایمی کاهش می‌یابد.

نتایج به دست آمده بر درصد کارایی حذف فسفات نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اولیه‌ی فسفات درصد کارایی حذف فسفات افزایش می‌یابد به‌طوریکه بیشترین میزان این شاخص زمانی مشاهده می‌شود که میزان فسفات تقریبا ۴۰ میلی گرم بر لیتر است و در ادامه با افزایش غلظت اولیه‌ی فسفات درصد کارایی حذف فسفات کاهش می‌یابد. نتایج حاصل از تاثیر دوره‌ی نوری بر درصد کارایی حذف فسفات نشان می‌دهد که با افزایش دوره‌ی نوری درصد کارایی حذف فسفات کاهش می‌یابد و در ادامه با شیب ملایمی افزایش می‌یابد. همچنین تاثیر برهم کنش غلظت اولیه‌ی نیترات و دوره‌ی نوری بر درصد کارایی حذف فسفات نشان می‌دهد که با افزایش دوره‌ی نوری و غلظت اولیه‌ی نیترات درصد کارایی حذف فسفات کاهش می‌یابد و در ادامه افزایش می‌یابد.

تاثیر غلظت‌های مختلف نیترات بر میزان لیپید کل نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اولیه‌ی نیترات میزان لیپید کل کاهش می‌یابد. همچنین تاثیر دوره‌ی نوری بر میزان لیپید کل نشان می‌دهد که با افزایش دوره‌ی نوری تا حدود ۱۸ساعت، میزان لیپید کل افزایش می‌یابد اما پس از آن روند ثابتی مشاهده می‌شود.

سپاسگزاری

هزینه مالی این پژوهش توسط دانشگاه شیراز تامین شده است.

منابع

فرامرزی، م.ع.، فروتن فر، ح.، شکیبایی، م. (۱۳۸۹). بیوتکنولوژی ریزجلبک‌ها. انتشارات دانشگاه تهران

Chen, X., & Pei, Y. (2016). Effects of sodium pentaborate pentahydrate exposure on Chlorella vulgaris growth, chlorophyll content, and enzyme activities. Ecotoxicology and Environmental Safety, 132, 353-359 .

Greenberg Arnold, E., & Clesceri Lenore, 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater: USA: American Public Health Association; ISBN 0-87553-207-1.

Mujtaba, G., Choi, W., Lee, C.-G., & Lee, K. (2012). Lipid production by Chlorella vulgaris after a shift from nutrient-rich to nitrogen starvation conditions. Bioresource technology, 123, 279-283 .