



بررسی امکان پاکسازی زیستی فلزات نقره و کادمیوم توسط باکتری های مقاوم به جیوه ی جداسازی شده از پساب دندانپزشکی

پریسا کرامتی^{۱*}، مهران هودجی^۲ و آرزو طهمورث پور^۳

۱. کارشناسی ارشد خاکشناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان و عضو باشگاه پژوهشگران جوان

۲. دانشیار گروه خاکشناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان

۳. استادیار گروه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان

*نویسنده مسوول: پریسا کرامتی، آدرس اینترنتی: p_keramati@yahoo.com Email:

چکیده:

در دندانپزشکی از ماده آمالگام که آلیاژی از جیوه، نقره و چند فلز دیگر است به وفور استفاده می شود و انتظار میرود که پساب های دندانپزشکی حاوی مقادیر بالای جیوه باشند. از طرفی بسیاری از میکروارگانیسم های موجود در این پساب ها توانایی تجزیه یا کلاته کردن ترکیبات شیمیایی سمی را دارند و تصفیه زیستی پساب های حاوی فلزات سنگین، از مؤثرترین و اقتصادی ترین روش های تصفیه این گونه پساب ها می باشد. در این تحقیق، سه نمونه پساب از بخش های کارورزی، ترمیمی و لوله خروجی پساب دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان انتخاب شد و خصوصیات نظیر میزان جیوه، pH، EC، COD و BOD اندازه گیری شد. پس از جداسازی و شناسایی ۴ سویه ی سیتروباکتر، سودوموناس، باسیلوس و استافیلوکوکوس، الگوی مقاومت آنها بر اساس تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) در حالت سازگاری، در محیط کشت حاوی کلرید جیوه تعیین و سپس خصوصیات رشد سویه های مقاوم به جیوه، نسبت به فلزات نقره و کادمیوم بررسی شد. نتایج نشان داد که از بین باکتری های مقاوم به جیوه، بیشترین مقاومت به نقره مربوط به سیتروباکتر (۲۵/۶ میلی مولار) و کمترین مقاومت مربوط به سودوموناس (۱۰/۶ میلی مولار) بود. اما در مجموع، بین مقاومت سویه ها به نقره اختلاف معنی داری مشاهده نشد. بیشترین مقاومت به کادمیوم نیز مربوط به سیتروباکتر (۲۱/۳ میلی مولار) بود و سایر سویه ها مقاومت ناچیزی از خود نشان دادند و بین مقاومت سیتروباکتر و سایر سویه ها اختلاف معنی داری وجود داشت. در کل، مقاومت سویه ها به نقره بالا و به کادمیوم پایین بود بنابراین شاید بتوان در آینده از باکتری های مقاوم به جیوه، جهت پاکسازی زیستی نقره از پساب های آلوده به این فلز جهت استفاده از آنها در آبیاری و کشاورزی استفاده کرد.

کلمات کلیدی: پاکسازی زیستی، پساب دندانپزشکی، جیوه، نقره، کادمیوم، سیتروباکتر

مقدمه

با وجود اینکه جیوه یکی از سمی ترین فلزات سنگین می باشد، هنوز به طور قابل توجهی در صنعت، کشاورزی و دندانپزشکی کاربرد دارد. بزرگترین منبع در معرض جیوه قرار گرفتن برای بیشتر مردم ساکن کشورهای توسعه یافته، استنشاق بخار جیوه ی ماده آمالگام دندانپزشکی می باشد و طبق گزارشهای آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا (U.S.EPA) در سال ۲۰۰۸، پسابهای دندانپزشکی منبع مهمی از تجمع جیوه هستند. نقره نیز که یکی از سمی ترین فلزات می باشد، به دلیل حضور در ترکیب آمالگام میتواند وارد پسابهای دندانپزشکی شود. مقدار نقره در آب های مطلوب $0.13 \mu\text{g/L}$ می باشد. کادمیوم نیز عنصری است که به علت حضور در زباله ها، پسابها و بخصوص در

لجن فاضلابی که بعنوان کود کشاورزی به اراضی داده میشود اهمیت می یابد. تبادل فلز در محیط آلوده به کادمیوم توسط میکروارگانیسم ها یک تدبیر محیطی محسوب می گردد تا فلز تحت تأثیر تجزیه زیستی قرارگیرد و از این راه تیمار در مناطق آلوده صورت گیرد (جایسانکار، ۲۰۰۳). با توجه به سطوح غلظت بالای برخی از فلزات در پسابها، باکتریها مکانیسم های مقاومتی را ایجاد می کنند که منجر به انتخاب گونه های مقاوم با توانایی تحمل سمیت فلزی و سازگاری می شوند. پاکسازی زیستی^۱، راهی است طبیعی برای پاکسازی محیط اطراف و عبارتست از هر فرآیندی که در آن از میکروارگانیسم ها، قارچ ها و گیاهان جهت بازگرداندن محیط به حالت اولیه خود، که قبلاً توسط آلاینده ها تغییر یافته بودند، استفاده می کند و میتواند جهت مبارزه با آلاینده های پساب مورد استفاده قرار گیرد (آدنیجی، ۲۰۰۴). هدف از این پژوهش، جداسازی و شناسایی باکتری های مقاوم به جیوه از پساب های دندانپزشکی و بررسی توانایی باکتری های مقاوم به جیوه در سمیت زدایی از فلزات نقره و کادمیوم جهت استفاده از آنها در پاکسازی زیستی این فلزات می باشد.

مواد و روش ها

در این تحقیق سه پساب از بخشهای ترمیمی، کارورزی و راه آب خروجی پساب دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان تهیه و مقادیر جیوه، COD، BOD، pH و EC آنها اندازه گیری شد. سپس جداسازی و شناسایی باکتری های مقاوم به جیوه (با انجام رنگ آمیزی گرم و سایر تست های شیمیایی) و تعیین حداقل غلظت مانع کننده از رشد (MIC) در حالت سازگاری به روش انتشار بر سطح آگار انجام شد. جهت تعیین MIC از غلظت های ۰/۰۵ تا ۲۵/۶ میلی مولار کلرید جیوه استفاده شد. در نهایت مقاوم ترین و سازگارترین باکتری ها به جیوه انتخاب و MIC هر کدام از آنها نسبت به ۲ فلز نقره (از فلزات رایج بکاررفته در ترکیب آمالگام دندانپزشکی) و کادمیوم (که در ترکیب آمالگام به کار نمی رود) بررسی شدند. نمک های استفاده شده ی این فلزات عبارت از $Ag(NO_3)$ و $Cd(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ می باشند.

بحث و نتیجه گیری

در جدول ۱ نتایج بررسی میزان تحمل باکتریها به غلظتهای مختلف جیوه (MIC) در حالت معمولی و سازگاری نشان داده شده است.

جدول ۲: مقایسه ی MIC و سازگاری (بر حسب mM) برای باکتری های مقاوم به جیوه

نوع باکتری	غلظت جیوه	۰/۴	۰/۸	۱/۶	۳/۲	۶/۴	۱۲/۸	۲۵/۶	۵۱/۲	میزان (Mm)	
										Adopt	MIC
گرم مثبت	استافیلوکوکوس (اورنوس)	+	+	+	+	+	+	-	-	۰/۴	۱۲/۸
		(MIC)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	-	-	
گرم منفی	باسیلوس (مگاتریوم)	+	+	+	+	+	+	+	-	۳/۲	۲۵/۶
		(MIC)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	-	-	
گرم منفی	سیتروباکتر (فرونندی)	+	+	+	+	+	+	+	-	۳/۲	۲۵/۶
		(MIC)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	-	-	
سودوموناس (مالتی)	سودوموناس (مالتی)	+	+	+	+	+	+	-	-	۱/۶	۶/۴
		(MIC)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	(Adopt)	-	-	

توضیح علائم جدول: +: رشد، -: عدم رشد

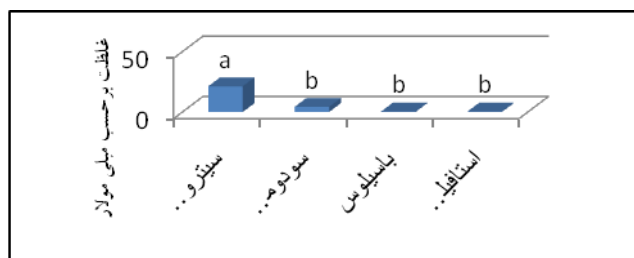
MIC: رشد پس از ۲ روز، Adopt: (سازگاری) رشد پس از ۱۰-۷ روز

مشاهده می شود که از بین باکتریهای گرم مثبت و منفی، بیشترین حد تحمل به جیوه پس از سازگاری به ترتیب مربوط به باسیلوس و سیتروباکتر بوده که هر دو توانایی رشد در غلظت بسیار بالای ۲۵/۶mM کلرید جیوه را داشته اند. با توجه به تحقیقات گذشته، بین

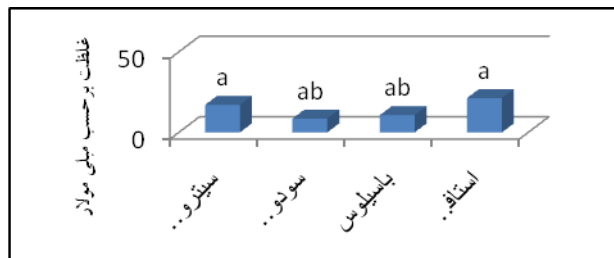
^۱. Bioremediation

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

باکتری‌هایی که در گذشته به عنوان گونه های مقاوم به جیوه معرفی شده اند و باکتری‌هایی که در این تحقیق به جیوه مقاوم بوده اند، شباهت هایی وجود دارد. کنان و کریشنامورتی (۲۰۰۶) در تحقیقی که بر روی باکتری‌های مقاوم به جیوه جدا شده از دریاچه پولیکات هند انجام دادند از سویه های باسیلوس و استافیلوکوکوس بعنوان سویه های مقاوم نام برده و نتایج MIC آنها بیانگر حد تحمل بالاتر در باسیلهای گرم مثبت، نسبت به نمکهای جیوه بود. در تحقیق حاضر میانگین MIC کل سویه ها و میانگین سازگاری آن ها از تحقیقات گذشته بالاتر است.



شکل ۲: مقایسه ی مقاومت به فلز کادمیوم توسط باکتری های مقاوم به جیوه



شکل ۱: مقایسه ی مقاومت به فلز نقره در باکتری های مقاوم به جیوه

نتایج تجزیه واریانس میزان MIC باکتری‌های مقاوم نسبت به فلز نقره نشان داد که حد مقاومت باکتریها در سطح ۱٪ و ۵٪ آزمون دانکن معنی دار نشده اما نتایج تجزیه واریانس فلز کادمیوم بر حد تحمل باکتری‌های مقاوم، در سطح ۱٪ آزمون دانکن معنی دار شد. همانطور که در اشکال ۱ و ۲ مشاهده می شود بین میزان مقاومت هیچکدام از سویه ها نسبت به نقره اختلاف معنی دار وجود نداشته و بیشترین میزان مقاومت مربوط به استافیلوکوکوس و کمترین میزان مقاومت مربوط به سودوموناس است اما بین میزان مقاومت سیتروباکتر با سایر سویه ها در مواجهه با کادمیوم اختلاف معنی دار وجود داشته و بیشترین میزان مقاومت مربوط به سیتروباکتری باشد و سویه های گرم مثبت تقریباً مقاومتی از خود نشان نداده اند. نتایج تحقیقات گذشته نشان داده که ارتباط مثبتی بین تحمل سطوح بالای فلزات سنگین و مقاومت چندگانه در باکتریها وجود دارد (آدنیجی، ۲۰۰۴). در تحقیق حاضر هیچکدام از باکتری‌های گرم مثبت توانایی رشد در حضور کادمیوم را نداشته و بنابراین باکتری‌های گرم مثبت جدا شده در این تحقیق پتانسیل پاکسازی زیستی کادمیوم را ندارند. دلیل این امر می تواند سمیت بالای کادمیوم و به کار نرفتن کادمیوم در ترکیب آمالگام باشد. اما باکتری‌های مقاوم به جیوه ی جداسازی شده در تحقیق حاضر، نسبت به نقره مقاومت بالایی از خود نشان داده اند. دلیل این امر را می توان به این مسئله مرتبط دانست که در ترکیب آمالگام از فلز نقره به وفور (> ۴۰٪ حجمی آمالگام) استفاده می شود، بنابراین نقره در غلظتهای بالا، به پسابهای دندانپزشکی تخلیه شده و در نتیجه باکتری های موجود در پساب می توانند با گذشت زمان نسبت به فلز نقره سازگار شوند.

نتیجه گیری کلی:

پساب هایی مثل پساب های دندانپزشکی که حاوی مقادیر بالای فلزات می باشند، محیطی مناسب برای رشد و تکثیر باکتری های مقاوم به یون های فلزی می باشند بنابراین با جداسازی و شناسایی باکتری های مقاوم به جیوه از این پساب ها و از مناطقی که جیوه به طور مداوم به آن ها تخلیه می شود و سبب سازگار شدن باکتری ها می شود، امکان استفاده از آنها در آلودگی زدایی از مناطق آبی آلوده به جیوه و برخی فلزات دیگر مثل نقره وجود خواهد داشت.



منابع و مراجع

1. Adeniji A. 2004. Bioremediation of Arsenic, Chromium, Lead, and Mercury. National Network of Environmental Management Studies Fellow for U.S. Environmental Protection Agency Office of Solid Waste and Emergency Response Technology Innovation Office Washington DC, pp:1-43.
2. Jaysankar De. 2003. Tolerance to various toxicants by marine bacteria highly resistant to mercury. Mar. Biotechnol, 5: 185-193.
3. Kannan, S.K, Krishnamoorthy R. 2006. Isolation of mercury resistant bacteria and influence of abiotic factors on bioavailability of mercury, A case study in Pulicate Lake North of chennia, South East India. Science of Total Environment, 367: 341-353.
4. U.S.EPA report. 2008. Fate and Transport and Ecological Effects of Mercury. Available from: <http://www.epa.gov/mercury/eco.htm> [Accessed September 2008]

Investigation of Ag and Cd Bioremediation by Mercury Resistant Bacteria Isolated from Dental Clinic Effluents

Parisa keramati^{*1}, Mehran hoodaji², Arezoo tahmourespour³

1. *M.Sc Student of Soil Science, Islamic Azad University Khorasgan branch Esfahan and member of young researchers club
2. Associated Professor of soil science, Islamic Azad University Khorasgan branch Esfahan
3. Assistant Professor of Microbiology, Islamic Azad University khorasgan branch Esfahan
*p_keramati@yahoo.com

Abstract:

Amalgam, widely used in dentistry, is a variety of alloys of mercury with other metals such as Silver, therefore, it is expected that dental wastewater be polluted with the mercury. Many microorganisms naturally have the ability to degrade or chelate various toxic chemicals. So, the biological treatments containing heavy metals, such as dental wastewater, are considered as the most economical and effective methods. In this research, three dental wastewater were selected from training, restorative section and an existing unit waterline of dental college of Khorasgan Islamic Azad University to determine properties as mercury content, EC, pH, COD and BOD₅. After isolation and identification of *Citrobacter*, *Pseudomonase*, *Bacillus* and *Staphilococcus*, the resistant pattern was scrutinized based on determination of growth minimal inhibitory concentration after adaptation in medium containing mercury chloride, then growth characteristics of mercury resistant bacteria against Cd and Ag was studied. The results showed that the greatest resistance to Ag, belonged to *Citrobacter* (25.6mM) and the lowest resistance belonged to *Pseudomonase* (10.6mM), but Generally, there was no significant differences in Ag tolerance among strains. The greatest resistance to Cd belonged to *Citrobacter* (21.3mM) and other strains rarely show resistance, but there was significant differences between *Citrobacter* resistant and other strains. On the whole, in mercury resistant bacteria, resistance was low to Cd and high to Ag. Therefore, there is a possibility of using mercury resistant bacteria for Ag bioremediation of polluted wastewater in order to use them in irrigation and agriculture.

Keywords: bioremediation, dental effluent, mercury, silver, cadmium, citrobacter



ششمین همایش ملی ایده های نو در کشاورزی



۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خراسان دانشکده کشاورزی



ششمین همایش ملی ایده های نو در کشاورزی



همایش ملی
ایده های نو در کشاورزی

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی