مجله بهداشت ایران
سال هفتم ، شماره ۲ ، تابستان ۲۵۳۷

# تغییر و تبدیل ترکیبات جیوه در محیط ، توسط میکروارگانیسم‌ها

دکتر محمود شریعت

**خلاصه :**

چهل باکتری ازمیکروارگانیسم های تیپیک خاک ، ته نشست ها وپساب فاضلابها در مقابل جیوه‌معدنی‌و آلی‌در محیط‌کشت ته نشست استریل شده عادت داده شدند . قابلیت تجزیه ترکیبات جیوه معدنی و همچنین بررسی امکان تولیدترکیبات آلی جیوه از کلرورمرکوریک با چهل میکرب عادت‌داده شده در محیط ته نشست حاوی ۱۰ میلیگرم در لیترکلرورمرکوریک انجام شد . آزمایش‌امکان تجزیه ترکیبات آلی جیوه‌ای با ۲۱میکرب عادت‌داده شده در محیط ته‌نشست‌حاوی ۲/۵ میلیگرم در لیتر متیل مرکوری انجام شده‌جیوه تام ،آلکیل مرکوری‌هاودای آلکیل مرکوریهادر ته نشست و محلول گیرنده بترتیب بروشهای‌اتمیک‌آبسورپشن‌ـ گازکروماتوگرافی‌ومجموع‌گازکروماتوگراف‌ـاتمیک‌آبسورپشن آزمایش شدند . ۲۲ تا۵۲% تقلیل‌در میزان جیوه تام معدنی‌در کشت تعدادی از باکتریها مشاهده شد . هیچیک از۴۰ باکتری‌قادرنبودندترکیبات‌آلی جیوه‌نظیر متیل‌مرکوری تولید نمایند ،در حالیکه‌شانزده میکرب هوازی‌و یک میکرب بیهوازی‌قابلیت تجزیه‌متیل‌مرکوریک کلراید و تبدیل آن به جیوه فلزی را نشان دادند . میزان تقلیل مرکوری در طی ۱۶ روز آزمایش در شرایط‌هوازی ۳۲ تا ۸۴% مقدار اولیه متیل مرکوری بود . آزمایش برای تولید سایرآلکیل‌مرکوریها و همچنین دای آلکیل مرکوریهای غیر یونیزه در کلیه آزمایشها منفی بود .

**مقدمه :**

اثرات‌سمی‌ترکیبات‌معدنی‌و آلی‌جیوه‌ای‌دیرزمانی است‌که شناخته‌شده‌اند مسئله‌ایکه این روزها باآن مواجه هستیم ازدیاد سریع مصرف ترکیبات جیوه‌ای در صنعت وکشاورزی در چند دهه اخیر میباشد .

املاح‌معدنی‌جیوه وقتی‌به‌آب واردشوندبصورت رسوب ضمیمه‌ته نشست‌های رودخانه

یادریاچه‌هامیشوندو دراینجااست که‌توسط میکروارگانیسم‌ها تبدیل‌بترکیبات آلی جیوه‌ای محلول در آب میشوندکه چندین باربرای انسان سمی‌تر میباشند (۱) . متیل مرکوری‌تولید شده در ته‌نشست رودخانه‌دربدن موجودات‌آبزی تجمّع پیدانموده از طریق زنجیرغذائی توسط صدفهای‌خوراکی‌وماهیهاباعث‌بروز ناهنجاریهای‌عصبی و بیماری در انسان میشود .

تحقیقات اوّلیه غالباً منحصربه‌تعیین مقدارجیوه تامّ معدنی در آبها وبدن ماهیها بودکه‌شمای‌کلی‌انتشار ترکیبات جیوه‌ای رانشان میداد . از آنجائیکه‌شناسائی نوع ترکیبات جیوه‌ای بخصوص ترکیبات آلی جیوه و همچنین تعیین مقدار هر یک از آنها لازم است‌در این مقاله‌تغییرات بیولوژیکی مواد جیوه‌ای در ته نشست رودخانه ها و دریاچه‌ها ، تبدیل ترکیبات جیوه‌ای‌معدنی به‌آلی مانند تولید متیل‌مرکوری از کلرور جیوه و یا برعکس‌تجزیه ترکیبات آلی‌جیوه‌ای توسط باکتریهای موجوددر خاک ، آب و پسآب فاضلاب مورد بررسی قرار گرفته است و از طرفی امکان تشکیل ترکیبات آلی غیر یونیزه جیوه‌ای نظیر دی متیل مرکوری– دی اتیل‌مرکوری– دی‌پروپیل مرکوری– دی بوتیل‌مرکوری و دی‌فنیل مرکوری نیز بررسی شده است .

اطلاعات‌بسیارمختصری درباره‌تجزیه ترکیبات‌معدنی جیوه‌ای ویاترکیبات آلی‌جیوه توسط باکتریهادر دست‌است (۲) . تونومواو همکاران در ۱۹۶۸ یک اسپس **پسودوموناس** جدانمودند که‌قدرت تحمّل آن‌نسبت به‌ترکیبات جیوه هزار برابر بیشتر از **اشر یشیا کلی** و **پسودوموناآئروژینوزا** بود (۲) . **کومورا و ایزاکی** سه دسته از **اشریشیا کولی** جدا نمودند که قادر بودند کلرور جیوه را تجزیه‌نموده جیوه فلزی‌آزاد نمایند (۳) . سامرو همکارانش تصعیدجیوه‌فلزی‌رااز محلول‌کلرور مرکوریک‌توسط باکتریهای **اشریشیاکولی ، استافیلوکوکوس اورئوس‌وپسودوموناآئروژینوزا** گزارش نمودند (۴و۵) . تصعید جیوه فلزی از محلول‌کلرور مرکوریک توسط قارچی از نوع کرپیتوکوکوس نیز گزارش شده است (۶) .

جنسن‌و جرنه لوف ، برای اوّلین بارتبدیل‌جیوه معدنی به ترکیب آلی متیل مرکوری را توسط باکتریهای‌موجود در ته‌نشست‌های طبیعی نشان‌دادند (۷) و تبدیل جیوه‌معدنی به‌متیل‌مرکوری بعدهاتوسط **باکتری‌متانوباکتریوم‌المیانسکی ای** نشان‌داده شده است (۸) .

اطلاعات در مورد تجزیه‌متیل‌مرکوری توسط باکتریهای موجود در آب وفاضلاب نیز بسیار کم است (۲و۶) .

اسپنگلر و همکاران در ۱۹۷۲ سی میکرب از محیط جدانمودند که قادر بودند متیل مرکوری را تجزیه نموده‌جیوه فلزی‌آزاد نمایند . دو عدد از این میکربها کوکسی‌های گرام مثبت ، دوتای آنهاباسیل گرام‌منفی بوده‌بقیه باسیل های‌گرام منفی بودند که‌خصوصیات پسودوموناراداشتند (۹ و۱۰) . اسکاتل و همکاران دسته‌ای از اشریشیا کولی را جـــدا

نمودند که نسبت به متیل مرکوریک استات و متیل مرکوریک کلراید مقاومت نشان‌دادندکه ظاهراً این مقاومت مربوط به‌تجزیه آنزیمی‌این موادو تصعید جیوه‌فلزی بوده است (۱۱). در این بررسی ۱۷ اسپس باکتری‌مشخص شده‌اندکه قدرت تجزیه متیل مرکوری‌و تبدیل آن به جیوه فلزی را دارا میباشند.

**روش آزمایش :**

**۱ـ انتخاب ته نشست بعنوان محیط‌کشت :**

از جهت اینکه‌محیط‌کشت‌هرچه‌بیشتر به‌شرایط طبیعی‌محیط نزدیکترباشد ته نشست یک مرداب انتخاب شد. بقایای گیاهی و سنگریزه از آن جدا شده کاملاً یکنواخت شد. سپس به حجم مساوی ۵۰ : ۵۰ آب به آن اضافه و از نظر وجود مواد غذائی کافی جهت رشد باکتریها آزمایش شد. نتیجه‌آزمایش محیط‌کشت‌در تابلوی ۱نشان داده شده است.

ته نشست‌تهیه شده بمدت ۳۰ دقیقه دراتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتیگراداستریل شد. و جهت اطمینان از رشد میکربی باسیل **پسودوموناآئروزینوزا** در یک نمونه آن کشت شد و رشد باکتری در مدت ۲۴ روز کنترل گردید که نتیجه بسیار رضایت بخش بود :

**تابلوی ۱**

تجزیه شیمیائی ته نشست

| | |
|---|---|
| PH | ۷/۲ |
| مواد معلق | ۷۵۰ گرم در لیتر |
| مواد معلق قابل تصعید | ۱۲/۷ گرم در لیتر |
| جمع مواد محلول | ۹۴۴ میلیگرم در لیتر |
| مواد محلول قابل تصعید | ۸۰۰ میلیگرم در لیتر |
| کربن آلی تام TOC | ۲۴۰۰ میلیگرم در لیتر |
| COD | ۱۰۳۲۰ میلیگرم در لیتر |
| ازت آمونیاکی | ۰/۵۶ میلیگرم در لیتر |
| ازت تام | ۹ میلیگرم در لیتر |
| فسفاتها | ۲/۲ میلیگرم در لیتر |
| * کلرورها برحسب $\bar{CL}$ | ۴۶/۵ " " |
| * سولفات ها بر حسب $\bar{SO4}$ | ۱۸ میلیگرم در لیتر |

* کلرور و سولفات در قسمت محلول آزمایش شده‌اند.

**۲ـ انتخاب میکروارگانیسم ها :**

چهل‌سویه‌میکرب که شایع ترین‌میکرب‌های‌خاص‌خاک ـ ته‌نشست ها و پسآب فاضلابها هستندجهت بررسی اثر آنها در تغییرو تبدیل ترکیبات جیوه درمحیط‌آب انتخاب شدند این میکربها در اغلب محیطهای مائی بفراوانی‌یافت میشوند . یازده میکرب در آزمایشگاه موجود بود و مابقی از مؤسسهٔ (American Type Culture Collection (ATCC واقع در راک ویل ایالت مریلند خریداری شد (۱۲) . هریک از باکتریها در محیط‌کشت مایع مناسب و در درجه حرارت اپتیمم کشت داده شدند .

**۳ـ عادت‌دادن میکرب ها** Acclimation

برای عادت دادن‌میکربها به ترکیبات جیوه معدنی و آلی روزانه به ۲۰۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت‌مناسب هریک‌از باکتریها ۱میلیگرم در لیتر کلرور مرکوریک‌و یا ۰/۲۵ میلیگرم در لیترمتیل مرکوری بمدت ۱۰ روزاضافه شد بطوریکه در پایان ده‌روز مقاومت میکربها در مقابل‌غلظت‌نهائی ۱۰ میلیگرم در لیترکلرور جیوه و یا ۲/۵ میلیگرم‌در لیتر متیل مرکوری بدست‌آمد . جهت تأمین مقدار کافی مواد غذائی‌روزانه ۱ میلی‌لیتر از محلول محیط‌کشتی که ۱۰برابر غلیظ ترتهیه‌شده بود بهریک اضافه میشد . آکلیماسیون میکربهای **کلوستریدیوم پرفرنژنس ،کلوستریدیوم بای فرمانتانس ، دی‌سولفو ویبریودی سولفور یکنس و دی سولفو ویبریو استو آری‌ای** در محیط بی‌هوازی و مابقی در محیط هوازی‌انجام شد . یکروز در میان ازهریک ازظروف باکتریهادر محیط‌کشت مربوطه‌کشت داده میشد تا از رشدکافی میکربها و خلوص کشت اطمینان حاصل شود .

**۴ـ آزمایش‌امکان تبدیل جیوه معدنی به آلی و یا تجزیه جیوه معدنی :**

ته نشست تهیه شده بعنوان محیط‌کشت در ظرف مخصوص‌آزمایش (bubbler) به‌میزان ۳۰۰میلی‌لیتراضافه‌شد . از کشت ۱۸ ساعته‌هر یک ازمیکربها بمیزانی به‌محیط اضافه شد که در حدودپنجاه میلیون باکتری‌در هر میلی لیتر محیط‌کشت‌وجود داشته باشد .

آزمایش‌میکربهای‌بی‌هوازی‌درشرایط بی‌هوازی‌و مابقی‌در شرایط هوازی انجام‌شد . پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت‌نگهداری‌ته‌نشست‌های کشت داده‌شده در حرارت آزمایشگاه ، بهریک از ظروف بمقدارکافی از محلول استریل کلرورمرکوریک اضافه گردید تا غلظت نهائی آن ۱۰میلی‌گرم درلیتر بر حسب جیوه‌باشد از هرنمونه میکربی دو ظرف‌تهیه شده بود .هوای

فشرده آزمایشگاه‌که از آب‌مقطر استریل جهت اشباع‌شدن از بخارآب عبور داده میشد پس‌ازگذشتن‌از صافی‌میلی پوربه هریک ازظروف مخصوص‌آزمایش واردمیشد تا اکسیژن مورد نیاز میکربها را تأمین نماید.

یک‌محلول جذب‌کننده (بفرمول‌بر مورپطاسیم ۱۰۰ گرم، برمور جیوه ۱۵ گرم، آب مقطر بمقدارکافی‌تا یک لیتر) در سر راه قرار داده شده بود تا مواد جیوه‌ای تصعید شده را جذب نماید. برای میکربهای بی‌هوازی بعوض هوا از سیلندر گاز ازت خالص‌استفاده میشد.

هر دو روز در میان و بمدت ۱۶ روز مواد داخل ظرف آزمایشی جهت تعیین مقدار جیوه تام ـ الکیل‌مرکوری ها و دی‌آلکیل‌مرکوریها‌آزمایش‌میشدند. در مورد محلول جاذب تنها جستجوی آلکیل مرکوریها انجام میشد زیرا بعلت اثر برمور جیوه بر دی الکیل های تصعید شده همگی تبدیل به آلکیل مرکوری میشدند.

همراه با هر نمونه آزمایشی دو سری کامل شاهد بکار گرفته میشد که در آنها کلیه عملیات‌برروی محیط بدون‌میکرب‌انجام میگرفت تا چنانچه تغییراتی در نوع ترکیب جیوه بدون دخالت میکروار گانیسمها پدید آید مشخّص شود.

## ۵ـ آزمایش‌امکان تجزیه جیوه آلی:

وسائل کشت و دستگاهها عیناً مانندآن بود که در تبدیل جیوه معدنی به آلی ذکر شد با این تفاوت که بهر یک از ظروف آزمایشی پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت کشت از محلول استریل متیل مرکوریک کلراید بمیزان کافی اضافه میشدتا غلظت نهائی به ۲/۵میلیگرم در لیتر برسد.

دوسری شاهدنیز حاوی۲/۵ میلیگرم در لیتر متیل‌مرکوریک‌کلراید بودند. درفواصل زمانی سه روزه آزمایش تعیین‌مقدار باقیمانده متیل مرکوری و تعیین مقدار جیوه تام انجام میشد.

محلول جاذب نیز جهت تعیین مقدارآلکیل مرکوری تصعید شده آزمایش میگردید.

## ۶ـ روشهای‌تعیین مقدار شیمیائی:

الف ـ تعیین‌مقدارجیوه تام ـ جیوه تام بروش اتمیک‌آبسوپشن بدون شعله با استفاده از دستگاه مرکوری آنالیزر (Colman MAS-50) ساخت پرکین المر تعیین مقدار شد. برای‌تهیه‌نمونه ها جهت‌تعیین مقدار جیوه در ته نشست‌ها روش هضم مخصوص‌توصیه شده‌توسط سازمان حفاظت محیط زیست‌آمریکا بکارگرفته‌شد تا ترکیبات آلی جیوه بخصوص

باندهای مربوط به ترکیب جیوه با پروتئین ها و یا گروه سولفید ریل اکسیده شده تبدیل به جیوه معدنی شوند (۱۳) .

ب ـ تعیین مقدار آلکیل مرکوری ها ـ با قدری تغییرات روش و ستو بکار رفت که شامل دو مرحله استخراج وتصفیه آلکیل مرکوری ها و آزمایش با گاز کروماتوگرافی میباشد (۱۴) . گاز کروماتوگراف بکار رفته دستگاه MT-220 بود و مشخصات دستگاه جهت آزمایش بقرار زیر بوده است :

ستون ـ شیشه‌ای بطول یک متر با قطر داخلی ۶/۳ میلیمتر ( $\frac{1}{4}$ اینچ ) مواد پر شده OV-17%۱/۵ باضافه QF-1%۱/۵ بر روی کرموسرب ۸۰ـ ۱۰۰ مش .

گاز حامل ـ ازت خالص[1] ۱۲۰ میلی لیتر در دقیقه .

درجه حرارت ورودی ـ ۱۷۰ درجه سانتیگراد .

درجه حرارت ستون ـ ۱۴۵ درجه سانتیگراد .

درجه حرارت دتکتور تری تیوم ۱۶۵ درجه سانتیگراد .

ج ـ تعیین مقدار ترکیبات دای الکیل مرکوری ـ مجموع دو دستگاه گاز کروماتوگراف و مرکوری آنالیزر مطابق روش بکار رفته توسط لونگ باتوم[2] و درسمن[3] بکار گرفته شد (۱۵) دستگاه گازکروماتوگراف بکار رفته MT-2000R بود در این روش ترکیبات غیر یونی جیوه توسط گازکروماتوگراف در درجه‌حرارتهای مختلف[4] جدا شده، توسط شعله هیدرژن سوخته و جیوه آزاد شده از هریک از ترکیبات غیر یونی جیوه بترتیب در دستگاه مرکوری آنالیزر بکمک دستگاه ثبات حسّاس شده تعیین مقدار میشود .

دستگاه تقطیر و ستون حاوی پر کلرات منیزیوم جهت جدا کردن بخار آب حاصله از سوختن هیدرژن اضافه شده بود . مشخصات گاز کروماتوگراف بقرار زیر میباشند :

ستون ـ شیشه‌ای بطول یک متر باقطر داخلی ۳/۱ میلیمتر ( $\frac{1}{8}$ اینچ ) ـ مواد پر شده ۵% DC-200 باضافه ۳%QF-1 بر روی گاز کروم ۸۰ـ ۱۰۰ مش ـ درجه‌حرارت ورودی ـ ۶۰ درجه حرارت .

درجه حرارت ستون ـ حرارت ستون در طی مدت ۱۰ دقیقه از ۶۰ درجه به ۱۸۰ درجه سانتیگراد افزایش داده شده ، مجدداً سرد شده به درجه حرارت اولیه بازگشت مینمود .

---

1- Purified 2- Longbottom 3- Dressman

4- Temperature Programming

**نتایج آزمایش :**

**۱ـ آکلیماسیون میکروارگانیسم‌ها :**

میکروارگانیسم‌ها را کسیونهای مختلفی در مقابل کلرور مرکوریک نشان دادند. **پسودوموناس آئروژینوزا ، استافیلوکوکوس ، آئروباکتر آئروژنزو پروتئوس میرابیلیس** مقادیر تا ۱۴ میلیگرم کلرورمرکوریک را تحمّل نمودند بدون آنکه آثار محسوسی در رشد آنها داشته باشد ولی ۱۰ میلیگرم در لیتر کلرور مرکوریک رشد **اشریشیاکلی ، باسیلوس سوبتی لیس ، آئروموناس هیدروفیلا ، پسودوموناس نیگر فاسی ینس و سارسینالوته آ** را بتأخیر انداخت . باکتریهای **باسیلوس ماسه رنس ، بروی باکتریوم لی ننز و بره وی باکتریوم فلاووم** مقادیر بیش از ۸ میلیگرم در لیتر کلرورمرکوریک را تحمّل ننمودند .

رشد میکربها در محیط حاوی متیل مرکوری (جیوه آلی) بسیار کندتر از محیط حاوی کلرور جیوه (جیوه معدنی) بود . چندین میکرب که در محیط حاوی جیوه معدنی رشد نموده بودند نتوانستند حتّی مقدار ۰/۳۷ میلیگرم در لیتر متیل مرکوری را تحمّل نمایند . جدول شماره ۲ نتایج آکلیماسیون میکربها به جیوه معدنی و آلی را نشان میدهد :

**جدول شماره (۲)**

**مقاومت میکربهای انتخابی به کلرور مرکوریک و متیل مرکوریک کلراید**

| میکرو ارگانیسم | مقدار متیل مرکوری تحمّل شده میلیگرم در لیتر | مقدار کلرورمرکوریک تحمّل شده میلیگرم در لیتر |
|---|---|---|
| آکروموباکتر پستی فر | ۲/۵ | ۱۴ |
| آئروموناس هیدروفیلا | (۱)ـ | ۱۰ |
| آئروموناس لیکه فاسی ینس | ـ | ۱۴ |
| آرتروباکتر اوره سنس | ـ | ۱۴ |
| آرتروباکتر گلوبی فرمیس | ـ | ۹ |
| باسیلوس ماسه رنس | (۲) ۰/۶۲ | (۳) ۸ |

(۱)ـ میکرب حتی مقدار کم ۰/۳۷ میلیگرم در لیتر را تحمّل ننمود .

(۲)ـ میکرب مقادیر بیش از ۰/۶۲ میلیگرم در لیتر را تحمّل ننمود .

(۳)ـ میکرب مقادیر بیش از ۸ میلیگرم در لیتر را تحمّل ننمود .

دنباله جدول شماره (۲)

| | | |
|---|---|---|
| باسیلوس مگاتریوم | ۰/۶۲ | ۱۴ |
| باسیلوس سوبتی لیس | ۲/۵ | ۸ |
| بره وی‌باکتریوم فولووس | — | ۸ |
| بره وی باکتریوم لی‌ننز | — | ۸ |
| بره وی باکتریوم Sp. | — | ۱۴ |
| سیتروباکتر اینترمدیوس | ۲/۵ | ۱۴ |
| سیتروباکتر فروندی‌ای | ۲/۵ | ۱۴ |
| کلسوستریدیوم پرفرنژنس | ۲/۵ | ۱۴ |
| کلوستریدیوم بای‌فرمانتانس | ۲/۵ | ۱۴ |
| دی‌سولفوویبریو دی‌سولفوریکانس | ۲/۵ | ۱۴ |
| دی‌سولفوویبریواستوآری ای | ۲/۵ | ۱۴ |
| آنتروباکتر آئروژنز | ۲/۵ | ۱۴ |
| آنتروباکترکلوآسه‌آ | ۲/۵ | ۱۴ |
| اشریشیا کولی | — | ۱۰ |
| فلاووباکتریوم آربورسنس | — | ۱۴ |
| فلاووباکتریوم مارینوتی پیکوم | ۲/۵ | ۱۴ |
| هایفومیکربیوم ایندیکوم | ۰/۶۲ | ۱۴ |
| پاراکلوباکتریوم کلیفرم | ۲/۵ | ۱۴ |
| پروتئوس میرابی لیس | ۲/۵ | ۱۴ |
| پروویدنسیا Sp. | ۲/۵ | ۱۰ |
| پسودومونا آئروژینوزا | ۲/۵ | ۱۴ |
| پسودومونا فلوئورسنس | ۲/۵ | ۱۴ |
| پسودومونا فراژی | ۲/۵ | ۱۴ |
| پسودومونا نیگری فاسی ینس | — | ۱۰ |
| پسودوموناا استوتزری | ۰/۶۲ | ۱۴ |
| سارسینا لوته‌آ | — | ۱۰ |
| سراشیا مارسه سنس | ۲/۵ | ۱۴ |
| سراشیا پلیموتی‌کا | ۲/۵ | ۱۴ |

## دنباله جدول شماره (۲)

| | | |
|---|---|---|
| استافیلوکوکوس .SP | ۲/۵ | ۱۴ |
| ویبریوآلبن سیس | ۲/۵ | ۸ |
| ویبریوکونه توس | ۲/۵ | ۱۴ |
| ویبریو سیکلوزایت | ۰/۶۲ | ۱۴ |
| ویبریو فیشری | — | ۸ |
| ویبریو مارینوپرزنس | — | ۱۴ |

**۲ـ تجزیه‌کلرور مرکوریک :**

درظروف محتوی باکتریهای **سراشیا مارسه سنس، پرووید نسیا** .SP ، **اشریشیا کلی ، سیستروباکتر فروندی‌ای ، سیترو باکتر دایورسوس، آنتروباکتر کلو آسه‌آ ، پسودوموناس فلوئورسنس، سارسینا لوته‌آ ، آرتروباکتر اوره سنس و فلاووباکتریوم مارینوتی پیکوم** ۲۲% تا ۳۴% تقلیل در میزان جیوه تام دیده شد در حالیکه ظرف حاوی **پروتئوس میرابیلیس** ۵۲% تقلیل در میزان جیوه تام را نشان داد . میزان تقلیل جیوه تام در ظروف شاهد با معدل ۸/۵% بود .

**۳ـ تبدیل ترکیبات معدنی به ترکیبات آلی جیوه[1] :**

هیچیک از چهل باکتری آداپته شده با کلرور مرکوریک و بکار رفته در این آزمایش قادر نبودند جیوه معدنی را به ترکیبات جیوه آلی تبدیل نمایند . هیچ مقدار قابل اندازه‌گیری آلکیل مرکوری در ظروف محتوی میکربها وهمچنین محلولهای جاذب دیده نشد .

**۴ـ تجزیه متیل مرکوریک کلراید[2] :**

شانزده باکتری هوازی که در مقابل ۲/۵ میلیگرم درلیتر متیل مرکوری بخوبی رشد کرده بودند قدرت تجزیه متیل مرکوری را نشان دادند . میزان تجزیه متیل مرکوری در شرایط هوازی بین ۳۲ تا ۸۴% بود . تجزیه متیل مرکوری توسط **ویبریو کونه توس** قابل توجه نبود .

از چهار باکتری که در شرایط بیهوازی آزمایش شدند فقط **دی سولفوویبریو یودی سولفوریکنس** ۳۲% متیل مرکوری موجود را تجزیه نمود . میزان درصد تقلیل متیل مرکوری توسط باکتریها در جدول ۳ ذکر شده‌اند .

1- Methylation 2- Demethylation

## جدول شماره ۳

آزمایش قابلیت باکتریها در تجزیه متیل مرکوری

(غلظت اولیه متیل مرکوری ۲/۵ میلیگرم در لیتر)

| میکروارگانیسم | نوع متابولیسم | درصد تجزیه متیل مرکوری |
|---|---|---|
| سراشیامارسه سنس | هوازی | ۸۴ |
| پرووید نسیا Sp. | " | ۸۳ |
| پسودومونا فلوئورسنس | " | ۷۹ |
| سیتروباکتر فروندی‌ای | " | ۷۱ |
| پروتئوس میرابیلیس | " | ۷۱ |
| آنتروباکتر آئروژنز | " | ۶۹ |
| آنتروباکتر کلوآسه‌آ | " | ۶۶ |
| پاراکلوباکتریوم کلیفرم | " | ۵۹ |
| آکروموباکتر پستی‌فر | " | ۵۳ |
| سراشیا پلیموتیکا | " | ۵۳ |
| استافیلوکوکوس .SP | " | ۵۳ |
| پسودوموناس آئروژینوزا | " | ۵۲ |
| باسیلوس سوبتی لیس | " | ۴۷ |
| فلاووباکتریوم مارینوتی پیکوم | " | ۳۷ |
| سیتروباکتر اینترمدیوس | " | ۳۲ |
| پسودوموناس فراژی | " | ۲۰ |
| ویبریو کونه‌توس | " | ۶ |
| کلوستریدیوم پرفرنژنس | بیهوازی | منفی |
| کلوستریدیوم بای‌فرمانتانس | " | منفی |
| دی سولفوویبریو دی سولفوریکنس | " | ۳۲ |
| دی سولفور ویبریو استوآری ای | " | منفی |
| شاهد | هوازی | ۷ |
| شاهد | بیهوازی | ۹ |

**بحث و نتیجه گیری :**

چهل میکرب از میکروارگانیسم های تیپیک خاک ــ ته نشست ها و پسآب فاضلابها مقادیر ۸ تا ۱۴ میلیگرم در لیتر جیوه معدنی راتحمل نمودند در حالیکه فقط ۲۱ عدد از آنها قادر بودند مقادیر بیش از ۰/۳۷ میلیگرم در لیتر متیل مرکوریک کلراید را تحمل نمایند . باکتریهای **باسیلوس ماسه رنس ، بره وی باکتریوم لی ننز و بره وی باکتریوم فلاووم** در عمل آکلیماسیون در محیط کشت خالص مقادیر بیش از ۸ میلیگرم در لیتر کلرور مرکوریک را تحمل ننمودند ولی هر سه این میکربها در محیط ته نشست در مقابل ۱۰ میلیگرم در لیتر کلرور مرکوریک بخوبی رشد نمودند . شاید قسمتی از جیوه روی ذرات خاک رس موجود در ته نشست آدسوربه شده عملا میکرب در معرض مقدار کمتری جیوه قرار گرفته است .

تجزیه کلرور مرکوریک و تبدیل آن به جیوه فلزی در محیط کشت ته نشست حاوی ۱۰ میلیگرم در لیتر کلرور مرکوریک توسط بعضی از میکروارگانیسم های زیر دیده شد : باکتریهای **سراشیا مارسه سنس ، پرووید نسیا** .SP ، **اشریشیا کلی ، سیترو باکتر فروندی ای ، سیترو باکتر دایورسوس ، آنترو باکترکلو آسه آ ، پسودوموناس فلوئورسنس ، سارسینا لوته آ ، آرترو باکتر اوره سنس و فلاووباکتریوم مارینوپیکوم** ۲۲ تا ۳۴٪ تقلیل در میزان جیوه تام معدنی نشان دادند در حالیکه **پروتئوس میرابیلیس** ۵۲٪ تقلیل در میزان جیوه تام نشان داد . تصعید جیوه فلزی از محیط کشت حاوی کلرور جیوه بعلت فعالیت **اشریشیا کلی** توسط سامر وهمکاران (۴) و بعلت فعالیت **پسودوموناس** توسط فوروکاوا (۱۶) تشریح شده است . باحتمال زیاد تقلیل جیوه تام از ظروف محتوی باکتریهای نام برده شده بدلیل مکانیسم مشابهی میباشد و ضمنا " راکسیونهای آنزیمی باکتریها و یا فرآورده های ثانویه آنها ممکن است اثر احیاء کننده برروی جیوه جذب شده بر ذرات معلق ته نشست ها داشته آنرا به جیوه فلزی قابل تصعید تبدیل نمایند .

میزان تقلیل جیوه معدنی در ظروف شاهد ۸ تا ۱۵٪ و میزان تقلیل متیل مرکوری در ظروف شاهد ۴ تا ۸٪ بوده که بعلل تبخیر و یا تجزیه بعلت راکسیونهای شیمیائی میباشد . میزان تقلیل جیوه تام در کلیه ظروف حاوی میکروارگانیسم ها و در شرایط هوازی بطور قابل ملاحظه ای از ظروف شاهد بیشتر بود .

میزان تصعید جیوه از ته نشست های محتوی میکربهای بیهوازی از ظروف شاهد هم کمتر بود دلیل آن باحتمال زیاد اینستکه هیدروژن سولفوره تولید شده توسط میکربهای بیهوازی ایجاد سولفور جیوه مینماید که در محیط آب از کلرور جیوه بسیار با ثبات تراست .

هیچیک از چهل میکروارگانیسم آزمایش شده قادر نبودند جیوه معدنی را به ترکیبات

جیوه آلی نظیر متیل مرکوری تبدیل‌نمایند . جنسن و جرنه لوف تبدیل جیوه معدنی به ترکیب آلی متیل مرکوری را توسط باکتریهای موجود در ته نشست های طبیعی نشان دادند (۷) .

ته نشست‌های‌طبیعی بکاررفته‌توسط جنسن‌و جرنه‌لوف‌حاوی‌تعداد بیشماری میکربهای هوازی و بیهوازی بودند ولی در آزمایشی که نگارنده با چهل میکرب محیط زیست کاملاً خالص و تک تک انجام داد هیچکدام از این‌باکتری ها قادر به تولید متیل مرکوری نبودند .

ونک[1] و سیج پس تجن[2] گزارش دادند که **پسودوموناس فلوئورسنس ، میکوباکتریوم فله‌ای ، اشیریشیاکولی، آتروباکتر آئروژنز و باسیلوس‌مگاتریوم** در طی‌یک‌هفته کشت هوازی مقادیر کمی متیل‌مرکوری تولید مینمایند (۱۷) .

برای اطمینان خاطر آزمایش بامیکربهای فوق‌الذکر باستثنای **میکوباکتریوم‌فله‌ای** تکرار شد ولی هیچگونه آثار تولید متیل‌مرکوری مشاهده‌نشد. علت آن‌شاید سویه‌های مختلف میکربی بوده باشد .

از ۲۱میکربی که‌به۲/۵میلیگرم در لیترمتیل مرکوری آداپته شده‌بودندو در آزمایش تجزیه متیل مرکوری بکار گرفته شدند ۱۷ عدد از آنهاقادربودند متیل مرکوری را بمیزان قابل توجه تجزیه نمایند. میزان تجزیه متیل‌مرکوری در شرایط هوازی‌بین ۳۲ تا ۸۴% بود .

تجزیه متیل مرکوری توسط **ویبریو کونه‌توس** قابل توجه‌نبود . مقادیر بیش‌از ۶۰% نقصان متیل مرکوری در ظروف‌حاوی **انتروباکتر آئروژنز ، سراشیا مارسه سنس ، پروتئوس میرابیلیس ، انتروباکتر کلوآسه‌آ ، پرووید نسیا** SP. سیتروباکتر فروندی‌ای‌و **پسودوموناس فلوئورسنس** دیده شدند .

از چهارمیکربی‌که‌درشرائط بیهوازی‌آزمایش‌شدند تنها دی‌سولفوروبریودی‌سولفوریکنس ۳۲% تقلیل درمیزان‌متیل مرکوری نشان‌داد .

باآنکه‌ظروف‌شاهدوظروف‌حاوی‌میکرب‌همگی‌دارای۲/۵ میلیگرم در لیتر متیل مرکوری بودند نقصان جیوه تام از ظروف‌حاوی میکرب (۵% تا ۴۳%) خیلی بیشتر از ظروف شاهد بود (۱۵%) .

میزان متیل مرکوری تصعید شده از ظروف آزمایشی که در محلول‌گیرنده جذب شده بود بسیار کم و با معدل ۲/۸ میکروگرم در لیتر بود که با مقایسه با میزان متیل مرکوری موجود در ظروف آزمایشی (۲/۵ میلیگرم در لیتر) ناچیز و قابل گذشت است .

آزمایش برای جستجو و تعیین مقدار اتیل مرکوری ـ بوتیل مرکوری ـ فنیل مرکوری ـ

---

1- Vonk 2- Sijpesteijn

دای متیل مرکوری ـ دای اتیل مرکوری ـ دای بوتیل مرکوری ـ دای پروپیل مرکوری و دای فنیل مرکوری در کلیه ظروف محتوی باکتریها منفی بود و این بدینمعنی است که متیل مرکوری بصورت ترکیبات دیگر جیوه آلی در نیامده است.

بررسی فوق الذکر اطلاعاتی در مورد تجزیه متیل مرکوری بسیار سمّی و تبدیل آن به فرم کم سمی جیوه فلزی بدست میدهد. باکتریهائی که قادر به این تجزیه هستند همگی ازباکتریهای فراوان محیط زیست میباشند واین نشان میدهدکه در آبهای آلوده به ترکیبات جیوه امکان عمل ضدسم[1] طبیعی وجود دارد. اطلاعات بدست آمده از این آزمایش میتواند به درک سیکل جیوه در طبیعت کمک نماید.

## REFERENCES

1. Aston, S.R., Brutz, D., Chester, R. and Riley, J.P. "The Distribution of Mercury in North Atlantic Deep-Sea Sediments." Nature Physical Science. Vol. 237, No. 77, June 19, 1972. p. 125.
2. Tonomuta, K., Maeda, K., Futai, F., Nakagami, R. and Yamada, M. "Microbiology: Stimulative Vaporization of Phenylmercuric Acetate by Mercury Resistant Bacteria." Nature, Vol. 217, Feb. 1968, pp.644-46.
3. Komura, I. and Izaki, K. "Mechanism of Mercuric Chloride Resistance in Microorganisms. I. Vaporization of Mercury Compound from Mercuric Chloride by Multiple Drug Resistant Strains of *Escherichia Coli.*" J.Biochem. Vol.70, 1971, pp.885-93.
4. Summers, A.O. and Lewis, E. "Volatization of Mercuric Chloride by Mercuric Resistant Plasmid-Bearing Strains of *Escherichia Coli, Staphylococcus aureus,* and *Pseudomona auruginosa.*" Journal of Bacteriology, Vol.113, No.2, Feb.1973, pp.1070-1072.
5. Summers, A.O. and Silvers, "Mercury Resistance in a Plasmid-Bearing Strain of *Escherichia Coli.*" J. Bacteriology, Vol. 112, No. 3, December 1972, pp.1228-1236.
6. Brunker, R.L. and Btt, T.L. "Reduction of Mercury to the Elemental State by a Yeast." Applied Microbiology, Vol. 27, No. 5, 1974.
7. Jensen, S. and Jernlov, A. "Biological Methylation of Mercury in Aquatic Organisms." Nature, Vol. 223, August 16, 1969, pp. 753-54.

1- Detoxication

8. Eyl, T.B., Wilcox, K.R.Jr. and Reizen, M.S. "Mercury, Fish and Human Health." Michigan Medicine, Vol. 69, October 1970. pp.873-880.

9. Spangler, W.J., Spigarelli, J.L., Rose, J.M. and Miller, H.M. "Methylmercury: Bacterial Degradation in Lake Sediments." Science, Vol. 180, April 1973, pp. 192-193.

10. Spangler, W.J., Spigarelli, J.L., Rose, J.M., Flippin, R.S. and Miller, H.H. "Degradation of Methylmercury by Bacteria isolated from Environmental Samples." Applied Microbiology, April 1973, pp. 488-93.

11. Schottel, J., Mandal, A., Clark, D., Silver, S. and Hedges, R.W. "Volatisation of Mercury and Organomercurials determined by Inducible R-Factor System in Enteric Bacteria." Nature, Vol. 251, Sept. 1974, pp.335-338.

12. The American Type Culture Collection Catalogue of Strains, ed. Hatt, H.D. and Lessel, E.F., Eleventh Edition, Rockville, Maryland, 1974.

13. Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes. EPA Publication No. 16020-07171. 1971.

14. Swedish Water and Air Plllution Research Laboratory. "Determination of Methylmercury by Gas Chromatography." Stockholm, August 1970.

15. Longbottom, J.E. and Dressman, R.C. "Direct Gas Chromotography of Nonionic Organomercurials with a Mercury-Specific Detector." Chromatography Newsletter, Vol. 2, No. 1, February 1973, pp. 17-19.

16. Furukawa, K. and Tonomura, K. "Metallic Mercury-Releasing Enzyme in Mercury-Resistant Pseudomonas." Agr. Biol. Chem., Vol. 36, No. 2, 1972, pp.217-26.

17. Vonk, J.W. and Sijpesteijn, A.K. "Studies on the Methylation of Mercury Chloride by Pure Cultures of Bacteria and Fungi." Antonie Van Leeuwenhock, Vol. 39, 1973. pp.505-513.