

بررسی اثر اکسیدکنندگی $FeSO_4$ و H_2O_2 بر خنثی‌سازی اتیدیوم بروماید - یک ماده برای رنگ‌آمیزی DNA ژنومی با قابلیت سرطان‌زایی



مونا خلقی^{۱*}، ناهید نوری^۲، جلال رستم زاده^۳ و علی جلیل سرقلعه^۱ و فرید حیدری^۴

^۱ ایران، کرج، دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی

^۲ ایران، سنندج، دانشگاه کردستان، دانشکده کشاورزی، گروه گیاه پزشکی

^۳ ایران، سنندج، دانشگاه کردستان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی

^۴ ایران، تهران، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، پژوهشکده کشاورزی، گروه زیست‌فناوری دامی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۳

چکیده

پژوهشگران علوم بیولوژی جهت بررسی ساختار ماکرومولکول‌های زیستی، پس از جداسازی و ازدیاد این مولکول‌ها نیازمند تکنیک‌های برای آشکار سازی بر ژل‌های آگارز می‌باشد. که به منظور رنگ‌آمیزی ژل‌های آگارز اتیدیوم بروماید به علت قیمت مناسب آن متأسفانه تا به امروز به عنوان یکی از اصلی‌ترین مواد فلوروسانت در اکثر مراکز پژوهشی در دنیا استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر مصرف وسیع این ماده در آزمایشگاه‌های بیولوژی و پزشکی به دلیل حلالیت در آب، سبب پایداری آن در محیط و ورود آن به اکوسیستم‌های آبی شده‌است. که این امر منجر به اختلال در سیستم گردش خون، فعالیت بافت‌های مختلف بدن و تغییر در فرآیند ترجمه و رونویسی DNA در موجودات مختلف و بروز سرطان شده‌است. روش‌های متفاوت فیزیکی و شیمیایی همچون الکتروکود BDD، جذب کربن فعال و غیره جهت خنثی سازی اتیدیوم بروماید، پیشنهاد شده‌است. که اکثر این روش‌ها به دلیل گران یا پیچیده بودن روش مصرف مورد استقبال پژوهشگران قرار نگرفته‌است. یکی از راهکارهای مقرون به صرفه برای مقابله با حذف ترکیبات شیمیایی نامطلوب استفاده از اکسیداسیون فتون‌ها می‌باشد ولیکن تاکنون نقش این مواد بر اتیدیوم بروماید سنجیده نشده‌است. لذا با توجه به کاربرد بالای اتیدیوم بروماید در مطالعات آزمایشگاهی، هدف از این تحقیق بررسی اثر ۶ تیمار مختلف دو ماده شیمیایی $FeSO_4$ و H_2O_2 به عنوان مواد اکسیدکننده قوی و ارزان قیمت بر خنثی‌سازی اتیدیوم بروماید می‌باشد. نتایج بیان کرد از بین تیمارهای مختلف تیمار حاوی ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر $FeSO_4$ به همراه ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر H_2O_2 دارای بالاترین پتانسیل برای اکسید کردن اتیدیوم بروماید می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اتیدیوم بروماید، اکسیدکننده، $FeSO_4$ ، H_2O_2 و DNA ژنومیک

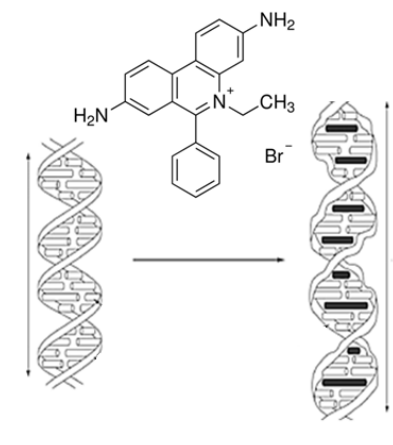

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۴۴۷۸۷۴۱۳، پست الکترونیکی: heidari@nigeb.ac.ir

مقدمه

مایل به قرمز می‌باشد. اتیدیوم بروماید توسط واتکینز در سال ۱۹۵۲، از ۳ و ۸ دی نیترو ۶ فنیل فنان تریدین با افزودن اتیل تولوئن به دنبال کار با برومید آمونیوم بدست آمد (۱۷). مشخصات فیزیکی و شیمیایی آن در جدول ۱ آمده‌است.

اتیدیوم بروماید (Ethidium bromide) یا هومیدیوم بروماید (Homidium Bromide) ماده‌ای از کریستال‌های جامد غیر فرار، به طور متوسط محلول در آب، اتیل گلیکول مونو متیل اتر و تا حد کمی محلول در کلروفرم و اتانول شناخته شده‌است. این ماده دارای خاصیت فلورسنت و رنگ نارنجی

جدول ۱- خصوصیات و ساختار اتیدیوم بروماید

ساختار شیمیایی	خصوصیات
	فرمول شیمیایی $C_{21}H_{20}BrN_3$
	جرم مولی ۳۹۴/۴ گرم بر مول
	دمای ذوب ۲۶۲-۲۶۰ سانتی‌گراد
	انحلال پذیری در آب ۴۰ گرم بر لیتر
	نقطه اشعال < ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد
	لوزی آتش 

می‌شود که در بلند مدت با کاهش گونه‌های آبرزی و بهم خوردن تعادل در اکوسیستم‌های آبی همراه خواهد بود (۳۰). در این راستا پژوهشی در سال ۱۳۹۱ به منظور بررسی اثرات اتیدیوم بروماید بر تعدادی از شاخص‌های هماتولوژیکی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام شد که نتایج این تحقیق بر سمیت این ماده بر موجودات آبرزی تاکید می‌کند. پاسخ‌های هماتولوژیکی ماهی کپور به سمیت اتیدیوم بروماید به صورت کاهش معنی‌دار در تعداد گلبول‌های قرمز، کاهش غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز نسبت به گروه کنترل می‌باشد (۱). لذا با توجه به این امر که مواد زائد جامد همانند مواد مصرفی آزمایشگاه‌ها، داروها و آنتی‌بیوتیک‌ها، رنگ‌ها و مواد شیمیایی از آلاینده‌های اصلی محیط زیست بوده، طی سال‌های اخیر مطالعات زیادی در راستای مدیریت بهینه آنها انجام گرفته، تا از خطرات و خسارت‌های زیست محیطی ناشی از آنها کاسته شود. که از جمله آنها می‌توان به روش‌های مختلفی همانند تجزیه نوری با استفاده از پرتو فرابنفش، استفاده از ترکیب فرآیند شبه فنتون (Fe/H_2O_2)، ترکیب فرآیند الکترولیز و فنتون (۲۷، ۲۵ و ۲۹) و یا جذب که نوعی فرآیند تغییر فاز است (۲۸) اشاره نمود. همچنین استفاده از دیاتومیت به عنوان جاذب در پژوهش‌های

به دلیل کاربرد ساده و عمومی اتیدیوم بروماید، این ماده در بسیاری از آزمایشگاه‌های بیوشیمیایی، زیست‌شناسی مولکولی، پزشکی، آنزیمولوژی و در تکنیک‌های متفاوتی مانند الکتروفورز، فلورومتری، اسپکتوفتومتری، فلوسیتومتری مورد استفاده می‌باشد. سرطان‌زا بودن این ماده در آزمون‌های حیوانی به اثبات رسیده است که مقدار آسیب‌دیدگی با طول مدت تماس ارتباط مستقیم دارد. تماس با چشم، به قرنیه آسیب وارد کرده و یا منجر به کوری می‌گردد. تماس طولانی و شدید با آن آسیب‌های ریوی، آسیب بافتی، خفگی، بیهوشی، عوارض جانبی تولید-مثلی و نهایتاً مرگ را می‌تواند در پی داشته باشد (۱۴). نشان داده شده است که اضافه کردن اتیدیوم بروماید به محیط کشت لئوسیت‌های انسانی سبب ایجاد تغییر در ساختار کروموزومی آنها می‌شود (۱۰). اتیدیوم بروماید قادر است بخش NADH-Ubiquinone در زنجیره تنفسی را در میتوکندری مهار نماید (۲۳). گزارش‌هایی نیز از رسوب این ترکیب در بافت‌های قلب، عضلات اسکلتی، تیروئید، آدرنال و روده وجود دارد (۱۳). همچنین آلودگی شیمیایی آب با چنین موادی به عنوان یک تنش شیمیایی برای ماهی‌ها و سایر آبزیان مطرح می‌باشد. سیستم ایمنی آبزیان تحت تاثیر مواد آلاینده منجر به بروز بیماری در آنها

مانع از استفاده‌ی این تکنیک‌ها در آزمایشگاه‌ها است. همچنین تخریب فوتوکاتالیستی این رنگ سمی توسط تکنیک TiO_2 به پارامترهای بسیار متنوعی از جمله شرایط آب و هوا، دما، pH، غلظت کاتالیزورهای مختلف و سوبستراها بستگی دارد (۱۳) و یا ساخت BDD که یک الکترواد آند دویبه شده از الماس و بور می‌باشد و نیاز به مهارت بسیار دارد که متأسفانه در حال حاضر در ایران ساخته نمی‌شود و هزینه وارد کردن آن نیز بسیار بالا می‌شود (۳۱).

یکی از راهکارهای مقرون به صرفه برای مقابله با حذف ترکیبات شیمیایی نامطلوب استفاده از اکسیداسیون فنتون‌ها می‌باشد ولیکن تاکنون نقش این مواد بر پاکسازی اتیدیوم بروماید سنجیده نشده است. لذا با توجه به قابل دسترس و ارزان بودن دو ماده $FeSO_4$ و H_2O_2 (با قابلیت اکسیداسیون بالا)، هدف از این پژوهش بررسی اثر احتمالی $FeSO_4$ و H_2O_2 به عنوان مواد اکسیدکننده بر خنثی‌سازی اتیدیوم بروماید در حضور و عدم حضور نور فرابنفش و همچنین شناسایی بهترین ترکیب این دو ماده اکسیدکننده جهت حداکثرکردن اثر خنثی‌سازی بر ماده سرطان‌زا می‌باشد.

مواد و روشها

در این پژوهش به منظور بررسی اثر اکسیدکنندگی $FeSO_4$ و H_2O_2 بر اتیدیوم بروماید آزمایش زیر طراحی گردید. ابتدا ۱۰ نمونه خون از گاو هلشتاین، با استفاده از ونوجکتهای ۵ mL حاوی ماده ضد انعقاد EDTA از طریق سیاهرگ دمی خونگیری شده‌است و استخراج DNA به روش نمکی (Salting out) انجام گرفت. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از خون با روش نمکی توسط اسپکتروفتومتری و از طریق محاسبه‌ی نسبت جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد که نسبت بدست آمده در محدوده‌ی مناسب ۲-۱/۸ قرار داشت. بعد از اطمینان یافتن از کیفیت DNA استخراج شده

متعددی مورد بررسی قرار گرفته است (۲). دیاتومیت یک سنگ رسوبی سفیدرنگ، نرم و سبک است که عمدتاً از میکروفسیل جلبک‌های تک سلولی آبی تشکیل می‌شود. ساختار ویژه آن سبب شده است تا به عنوان فیلتراسیون برای نوشیدنی‌های مختلف و مواد شیمیایی آلی و غیرآلی و همچنین به عنوان جاذب در حذف لکه‌های نفتی کاربرد داشته باشد (۱۸). اما در بین انواع پسماندهای آزمایشگاهی، اتیدیوم بروماید به عنوان یکی از مواد خطرناک مورد توجه بوده و مدیریت بهینه پسماند آن بسیار ضروری می‌باشد. اهمیت این موضوع تا آنجاست که در کشورهای توسعه یافته بازرسی به صورت سرزده به آزمایشگاه‌های مولکولی انجام می‌گیرد تا در صورت آلودگی بیش از حد سطوح، مسئول آزمایشگاه را توبیخ کنند. لذا به دلیل سرطان‌زا بودن این ماده روش‌های مختلفی به منظور دفع اتیدیوم بروماید ارائه شده است که از جمله آن‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره نمود. روش‌های تصفیه در محل مصرف اتیدیوم-بروماید، جهت آماده‌سازی برای دفع آسانتر و راحتتر آن شامل روش جذب کربن فعال، روش جذب آمبولایت XAD-16، خنثی‌سازی اسید هیپوفسفروس، سدیم نیترات، سدیم بیوکربنات، خنثی‌سازی توسط پتاسیم پرمنگنات، هیدروکلریک اسید، سدیم هیدرواکساید، دسترویر، الکترواد TiO_2 = Titanium) و (BDD= Boron-Doped Diamond) است (۱۵، ۲۹ و ۳۱). ولی با این حال ژل‌های آلوده بدون خنثی‌سازی در محیط زیست رها می‌شوند که از مهمترین دلایل این امر پیچیدگی و سخت بودن مراحل کار و همچنین گران بودن اکثر تکنیک‌های معرفی شده به عنوان پاک‌کننده اتیدیوم بروماید است. به طور مثال استفاده از فیلترهای مختلفی همچون فیلترهای ذغالی (Charcoal filtration) و کیت‌های قیف مانند (Funnel Kit) به عنوان آسان‌ترین روش‌هایی که تاکنون پیشنهاد شده است، علاوه بر تحمیل بار مالی اضافی بر آزمایشگاه‌های مولکولی می‌بایست در جعبه‌های مخصوص مواد زائد خطرناک قرار داده شوند و سپس در کوره سوزانده شوند که همین موارد

توسط $FeSO_4$ و H_2O_2 در ۶ تیمار مختلف شامل غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از $FeSO_4$ و غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم از H_2O_2 در حضور و عدم حضور اشعه فرابنفش مورد ارزیابی قرار گرفت. (جدول ۲).

۵ میکرولیتر از نمونه DNA به همراه ۳ میکرولیتر بافر بارگذاری در هر چاهک تزریق گردید. سپس بعد از رنگ-آمیزی ژل‌ها توسط اتیدیوم بروماید، کیفیت باندهای DNA موجود در ژل‌ها مورد سنجش قرار گرفت که بعد از تایید کیفیت مطلوب مورد انتظار، در مرحله بعد تغییرات ژل‌ها

جدول ۲- مقادیر مختلف تیمارهای فتون جهت اکسایش اتیدیوم بروماید

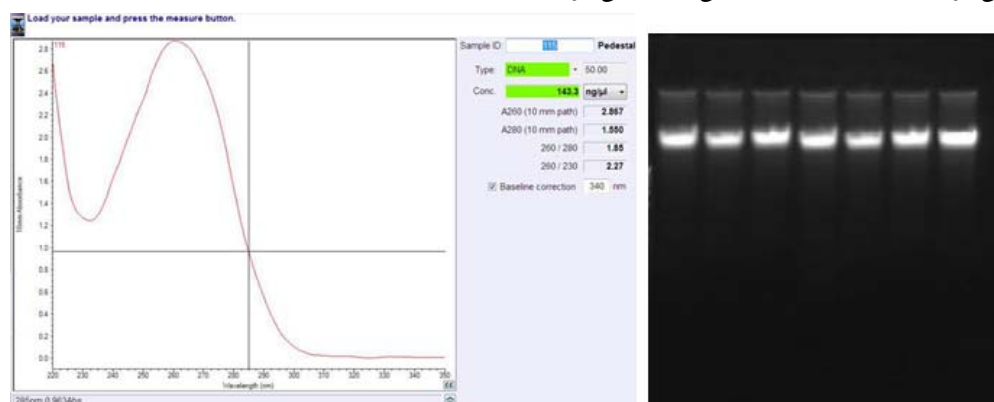
شماره	تیمار
۱	$FeSO_4$ برابر با 50 mg/li و H_2O_2 100 mg/li بدون حضور نور UV
۲	$FeSO_4$ برابر با 100 mg/li و H_2O_2 200 mg/li بدون حضور نور UV
۳	$FeSO_4$ برابر با 200 mg/li و H_2O_2 300 mg/li بدون حضور نور UV
۴	$FeSO_4$ برابر با 50 mg/li و H_2O_2 100 mg/li در حضور نور UV
۵	$FeSO_4$ برابر با 100 mg/li و H_2O_2 200 mg/li در حضور نور UV
۶	$FeSO_4$ برابر با 200 mg/li و H_2O_2 300 mg/li در حضور نور UV

عوارض جبران ناپذیری در محیط زیست و سایر جانداران از جمله انسان داشته باشد (۳).

نتیجه‌ی الکتروفورز محصولات DNA بر روی ژل آگارز کیفیت مناسب روش استخراج DNA را تایید می‌کند (شکل ۱ چپ). همچنین نتایج غلظت سنجی DNA با نانودراپ در شکل ۱ (راست) نشان دهنده این است DNA استخراج شده دارای کمیت و کیفیت مناسبی می‌باشد.

نتایج و بحث

ترکیبات سمی می‌توانند هم بصورت مستقیم باعث آلودگی انسان شوند و هم از طریق مصرف مواد غذایی تولید شده در محیط‌ها و خاک‌های آلوده به بدن انسان وارد شوند و تاثیرات منفی خود را بر انسان و سایر موجودات زنده بروز دهند (۴). ولیکن متاسفانه در بسیاری از فعالیت‌های صنعتی، تحقیقاتی و آزمایشگاهی از مواد سمی متعدد استفاده می‌شود. که رهاسازی بدون خنثی‌سازی می‌تواند



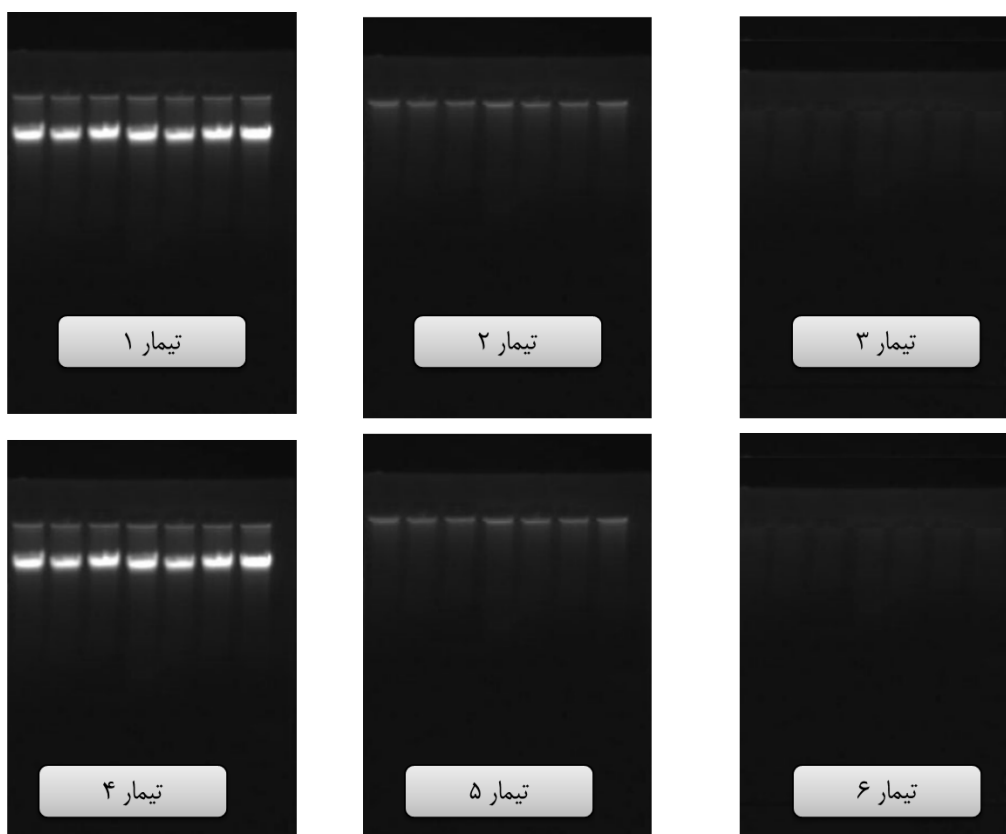
شکل ۱- محصولات DNA بر روی ژل آگارز (چپ) و نمودار نانودراپ DNA (راست)

اتیدیوم بروماید می‌باشد بطوریکه که بین تیمارهای مختلف تیمار شش حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از $FeSO_4$

نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که دو ماده اکسید کننده H_2O_2 و $FeSO_4$ دارای توان لازم جهت خنثی‌سازی اثر

خواص فیزیکی و شیمیایی این ماده را داشته و قادر به خنثی‌سازی آن است (شکل ۲).

به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از H_2O_2 به عنوان بهترین تیمار در اکسید نمودن اتیدیوم بروماید بوده توانایی تغییر



شکل ۲- اثر سطوح مختلف $FeSO_4$ و H_2O_2 بر اتیدیوم بروماید موثر بر DNA ژنومیک

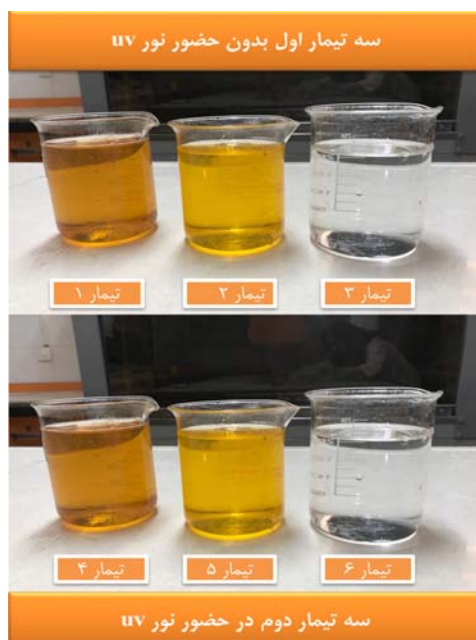
دارد، فرآیند فتون است که در سالهای اخیر به دلیل تولید و مصرف آلاینده‌های سمی و دیر تجزیه‌پذیر کاربرد بیشتری پیدا کرده است (۸). فتون فرآیندهای اکسیداسیون شیمیایی است که در آن، یون آهن به عنوان کاتالیست در یک محیط اسیدی با اکسیداسیون وارد واکنش شده و تولید رادیکال هیدروکسیل می‌نماید. این واکنش از نوع واکنش-های اکسایش-کاهش می‌باشد به این ترتیب که یون فلزی، انتقال یک الکترون را می‌پذیرد:



همچنین کارایی این روش تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله pH، دما، غلظت آهن، پراکسید هیدروژن و زمان واکنش است (۶ و ۲۰). که برخی پژوهش‌ها دلیل تاثیر

این امر محرز است که بهم پیوستن مولکول و یا از هم گسیختن آن‌ها موجب تغییر ماهیت شیمیایی مواد می‌گردد. اکسیداسیون پیشرفته برای اکسیداسیون ترکیبات آلی و غیر آلی کاربرد دارد. محققین این فرآیندها را به عنوان فرآیندهایی که همراه با تولید رادیکال‌های بسیار فعال هیدروکسیل می‌باشد و پتانسیل بالایی برای اکسیداسیون ترکیبات آلی دارند، تعریف نمود (۱۹ و ۲۱). به خاطر ظرفیت اکسایش بالای رادیکال‌های هیدروکسیل (۲/۸ ولت)، در اغلب فرآیندهای اکسایش پیشرفته، رادیکال OH با روش‌های مختلف تولید می‌شود که با تلفیق آن‌ها می‌توان علاوه بر افزایش تولید رادیکال هیدروکسیل، سرعت اکسیداسیون را بهبود بخشید (۱۱-۱۲). یکی از فرآیندهای اکسیداسیون شیمیایی که در تصفیه آب و فاضلاب کاربرد

غلظت ۰/۰۵ مول بر لیتر ماده اکسیدکننده، ۰/۰۲۵ میلی مول در لیتر آهن و pH اسیدی بوده است (۵). که از نظر کارایی استفاده از فنتون جهت اکسایش مواد سمی توسط H_2O_2 و $FeSO_4$ با تحقیق حاضر تشابه دارد (شکل ۳).



شکل ۳- اثر سطوح مختلف H_2O_2 و $FeSO_4$ بر مایع اتیدیوم بروماید

همچنین در تحقیق دیگری که توسط کریمی و همکاران در سال ۱۳۹۲ در مورد بررسی فرآیند اکسیداسیون پیشرفته UV/H_2O_2 در حذف ماده سمی نفتالین (هیدروکربن چند حلقه‌ای) از محیط آب انجام شد نشان دادند که شرایط بهینه جهت پاکسازی ۱۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالین با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر H_2O_2 در $pH=3$ و شدت فرا بنفش (۲۵۴ نانومتر) با راندمان ۷۳ درصد می‌باشد (۶). که نتایج آن‌ها از نظر خاصیت اکسایش فنتون‌ها بر پاکسازی مواد سمی با تحقیق حاضر مطابقت دارد ولی از نظر استفاده از نور فرا بنفش متفاوت است. در پژوهشی دیگر که به منظور بررسی تصفیه‌پذیری فاضلاب صنایع فرش با استفاده از فرآیند فنتون انجام گرفت نتایج این تحقیق به منظور حذف رنگ‌های شیمیایی سینتتیک تایید می‌شود. آن‌ها نشان دادند مصرف ۵/۵ گرم بر لیتر از $FeSO_4$ به همراه

افزایش pH بر میزان خنثی نمودن مواد زائد در محیط آبی را به دلیل افزایش جاذبه الکترواستاتیکی نسبت داده‌اند (۹). لذا به طور کلی موثرترین روش زدایش مواد آلی و غیرآلی اکسیداسیون شیمیایی است. توان استاندارد اکسیدکنندگی پراکسید هیدروژن در pH های اسیدی و بازی به ترتیب ۱/۸ و ۰/۸۷ ولت می‌باشد. این ماده شیمیایی برای تیمار پساب‌های صنعتی حاوی مواد آلاینده معدنی و آلی کاربرد وسیعی دارد. بیشتر کاربرد آن در حذف مواد آلاینده شامل ترکیبات سولفیتی، هیدروکلریت‌ها، نیتريت‌ها، سیانیدها و کلر می‌باشد. همچنین از پراکسید هیدروژن در تصفیه گازهای حاوی اکسیدهای گوگرد دار و اکسید نیتروژن با تبدیل آن‌ها به اسید استفاده می‌شود همچنین این ماده در عملیات سفید کردن خمیر کاغذ و تولید ترکیبات آلی مورد استفاده قرار می‌گیرد. با تجزیه پراکسید هیدروژن، آب و اکسیژن تولید می‌شود و از این قابلیت به منظور تامین اکسیژن مورد نیاز میکروارگانیسم‌ها در تصفیه زیستی و همچنین واحدهای پاکسازی زیستی (Bioremediation) مواد آلاینده استفاده می‌شود (۷، ۱۶، ۲۰ و ۲۶). بنابراین طبق بررسی‌های انجام شده، از ترکیب فنتون‌ها در پاکسازی مواد سمی متفاوتی در فاضلاب به منظور پاکسازی اکوسیستم انجام می‌شود. از جمله پژوهش‌های انجام شده در این راستا تحقیقی است که صیدمحمدی و موحدیان در سال ۱۳۸۹ به منظور بررسی اثر التراسونیک/فنتون بر اکسایش ۴-کلروفنل است. ترکیبات فنلی در محیط زیست به دلیل خصوصیات خاص از جمله سمیت و تجزیه‌ناپذیری منجر به مشکلات بسیاری می‌شود. آن‌ها نشان دادند که اکسیداسیون ۴-کلروفنل با استفاده از فرآیند اکسیداسیون پیشرفته تلفیقی (امواج فراصوت و فنتون) بسیار فراتر از استفاده مجزا از هریک از روش‌های مذکور است و سرعت تجزیه ۴-کلروفنل به عوامل متعددی نظیر pH، غلظت پراکسید هیدروژن به عنوان اکسیدکننده، زمان تماس، غلظت آهن و غلظت اولیه ماده آلی بستگی داشته است. همچنین بهترین شرایط بهره‌برداری سیستم در

و همچنین قیمت بسیار مناسب این مواد نسبت به سایر روش‌ها استفاده آن به منظور پاکسازی اتیدیوم بروماید توصیه می‌شود.

تقدیر و تشکر

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از همکاری مسئولین آزمایشگاه ژنتیک بخش اصلاح نژاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران و نیز مسئولین آزمایشگاه ژنتیک بخش اصلاح نژاد دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان تشکر نمایند.

۳۸۵ گرم بر لیتر H_2O_2 منجر به حذف COD با راندمان ۹۵ درصد می‌شود (۷). لذا نکته اساسی در پژوهش حاضر بحث تغییر ماهیت اتیدیوم بروماید و عدم خاصیت فلوروسانس بودن این ماده است که همانطور که نشان داده شد، بعد از قرارگیری در معرض مواد پاک‌کننده منجر به خستگی کردن اتیدیوم بروماید می‌شود. لازم به ذکر است بر طبق آزمایش‌های انجام شده بهترین مقدار مواد مصرفی جهت پاکسازی برای $FeSO_4$ برابر با ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و برای H_2O_2 ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد و پارامترهایی همانند استفاده از نور فرابنفش، دما و pH تاثیر چندانی بر فرآیند نداشته است. بنابراین متناسب با دسترسی آسان کاربران آزمایشگاه به مواد شیمیایی $FeSO_4$ و H_2O_2

منابع

- ۱- حاتمی ح. سیه چهره م (۱۳۹۱). بررسی اثرات اتیدیوم بروماید بر تعدادی از پارامترهای هماتولوژیکی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد، واحد سنندج ۴۰: (۱) ۳۳-۴۰.
- ۲- داودی س. دهرآما ب. گودرزی ن. قاسمیان گرجی ه (۱۳۹۶). بررسی عملکرد نانوجاذب زیستی دیاتومیت در حذف آزیترومايسين از محلول آبی. چهارمین کنفرانس بین‌المللی برنامه ریزی و مدیریت محیط زیست.
- ۳- رجایی س. سیدی م. رئیسی ر. شیری ش. معظم جزم (۱۳۹۵). اثر آلودگی نفتی خاک بر برخی از ویژگیهای
- ۴- فیزیولوژیکی و مولکولی گیاه ۲۹مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی ۲۹: (۱) ۱۹۷-۱۸۱.
- ۵- شکوهران قهرخی ا. زمانی م ر. حیدریان نایین ف. منصوریان ع ر (۱۴۰۰). بررسی اثرات خاکهای آلوده به سیانید بر خصوصیات فیزیکیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه *Sorghum bicolor*. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی ۳۴: (۱) ۱۰۸-۹۴.
- ۶- صید محمدی ع م. موحدیان عطار ح (۱۳۸۹). اکسایش ۴-کلروفتل از فاضلاب صنایع شیمیایی با استفاده از فناوری التراسونیک /فتتون در محیط آبی. آب و فاضلاب شماره ۲۳ (۴): ۴۹-۴۳.
- ۷- کریمی ب. رجایی م ص. حبیبی م. عیسوند م. عبداللهی م (۱۳۹۲). بررسی فرآیند اکسیداسیون پیشرفته UV/H_2O_2 در حذف نفتالین از محیط آب. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک ۲۳ (۵): ۶۳-۵۳.
- 8- Al-Degs Y. Khraisheh MAM. Allen SJ. Ahmad MN (2000). Effect of carbon surface chemistry on the removal of reactive dyes from textile effluent. *Water Res* 34: 927-935. doi:10.1016/S0043-1354(99)00200-6.
- 9- Al-Momani F (2003). Combination of photo-oxidation processes with biological treatment. Doctoral tesis, Universitate de Barcelona.
- 10- AlphaPharm Pty Limited (2016). Azithromycin Product Information. On the WWW, April. URL <http://www.medicines.org.au/files/afpazith.pdf>.
- 11- Andersen O. Ronne M (1986). Effects of ethidium bromide and bisbenzimidazole (Hoechst 33258) on human lymphocyte chromosome structure. *Hereditas* 105: 269-72. doi: 10.1111/j.1601-5223.1986.tb00672.x.
- 12- Bergendahl J. O'Shaughnessy J (2004). Applications of advanced oxidation for wastewater treatment. In: International Business and Education Conference "A Focus on Water Management", Worcester Polytechnic Institute.
- 13- Chan K. Chu W (2003). Modeling the reaction kinetics of Fenton's process on the removal of atrazine. *Chemosphere* 51: 305-311. doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00812-3.

- 14- Ellens H. Van Renswoude AJBM. Kroon AM. (1978). Tissue distribution of free and complexed ethidium bromide and its possible relation to cardiotoxicity. *J Mol Med* 3: 247-255.
- 15- Environment, Health and safety department of University of Wisconsin (2017). Ethidium Bromide (EtBr) Safety Guidance. Available at <https://ehs.wisc.edu/wp-content/uploads/sites/1408/2020/08/CHM-GUI-003-NEW.pdf> accessed 20/05/2022.
- 16- Faisal M. Tariq MA. Muneer M (2007). Photocatalysed degradation of two selected dyes in UV-irradiated aqueous suspensions of titania. *Dyes Pigm* 72: 233-239. doi.org/10.1016/j.dyepig.2005.08.020
- 17- Hang X. Dongxiang Z. Wenguo X(2008). Monitoring of decolorization kinetics of Reactive Brilliant Blue X-BR by online spectrophotometric method in Fenton oxidation process, *J Hazard Mater* 158(2-3): 445-453. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.01.109.
- 18- Huang Q. Fu WL (2005). Comparative analysis of the DNA staining efficiencies of different fluorescent dyes in preparative agarose gel electrophoresis. *Clin Chem Lab Med* 43(8):841-2. doi: 10.1515/CCLM.2005.141.
- 19- Jiang L. Liu L. Xiao S. Chen J (2016). Preparation of a novel manganese oxide-modified diatomite and its aniline removal mechanism from solution. *Che Eng J* 284: 609-619. doi.org/10.1016/j.cej.2015.08.140.
- 20- Kestioglu K. Yonar T. Azbar N (2005). Feasibility of physico-chemical treatment and advanced oxidation processes (AOPs) as a means of pretreatment of olive mill effluent (OME). *Process Biochem* 40 :2409-2416. doi.org/10.1016/j.procbio.2004.09.015.
- 21- Kritikos DE. Xekoukoulotakis NP. Psillakis E. Mantzavinos D (2007). Photocatalytic degradation of reactive black 5 in aqueous solution: effect of operating conditions and coupling with ultrasound irradiation. *Water Res.* 41(10): 2236-2246. doi.org/10.1016/j.watres.2007.01.048.
- 22- Munter R (2001). Advanced oxidation processes—current status and prospects. *Proc Estonian Acad Sci Chem* 50: 59-80. doi.org/10.1002/chin.200141291.
- 23- Ostra M. Ubide C. Zuriarrain J (2007). Interference modelling, experimental design and pre-concentration steps in validation of the Fenton's reagent for pesticides determination. *Anal Chim Acta* 12; 584(1):228-35. doi: 10.1016/j.aca.2006.11.028.
- 24- Pena A. Chavez E. Carabez, A. De Gomez-puyou, MT (1977). The metabolic effects and uptake of ethidium bromide by rat liver mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 30;180(2):522-9. doi: 10.1016/0003-9861(77)90068-6.
- 25- Pieczykolan B. Plonka I. Barbusinski K. Amalio-Kosel M (2013). Applications of advanced oxidation for wastewater treatment. In: International Business and Education Conference “A Focus on Water Management”, Worcester Polytechnic Institute. *Arch Environ Prot* 39(2):107-115. DOI: 10.2478/aep-2013-0016.
- 26- Prados-Joya G. Sánchez-Polo M. Rivera-Utrilla J. Ferro-García M (2011). Photodegradation of the antibiotics nitroimidazoles in aqueous solution by ultraviolet radiation. *Water Res* 45(1):393-403. doi: 10.1016/j.watres.2010.08.015.
- 27- Rajaa I. Valiente M. Yaacoubi A. Tanouti B. López-Mesas M (2011). Rapid decolourization and mineralization of the azo dye C.I. Acid Red 14 by heterogeneous Fenton reaction. *J Hazard Mater* 186(1):745-50. doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.11.056.
- 28- Sánchez-Polo M. Rivera-Utrilla J. Prados-Joya G. Ferro-García MA. Bautista-Toledo I (2011). Removal of pharmaceutical compounds, nitroimidazoles, from waters by using the ozone/carbon system. *Water Res* 42(15): 4163-4171. doi.org/10.1016/j.watres.2008.05.034.
- 29- Worch, E. (2012) Adsorption Technology in Water Treatment-Fundamentals, Processes, and Modeling, Germany. Walter de Gruyter, GmbH & Co. KG, Berlin, 345 p. <https://doi.org/10.1515/9783110240238>.
- 30- Yazdanbakhsh AR. Sardar M. Eliasi S. Sheikh Mohammadi A (2015). Comparison of Azithromycin COD removal from wastewater by Fenton, Fenton like and Electro-Fenton processes. *Sustain Environ Res* 25(6): 331-337. Comparison of Azithromycin COD removal from wastewater by Fenton, Fenton like and Electro-Fenton processes
- 31- Zelikoff JT, Enane NA, Bowser D, Squibb KS, Frankel K (1991). Development of fish peritoneal macrophages as a model of higher vertebrates in immunological studies I. Characterization of trout macrophage

morphological. Fundam Appl Toxicol
16(3):576-89. doi: 10.1016/0272-
0590(91)90097-n.

ethidium bromide: Process optimization by
response surface methodology. Electrochim
Acta 64:100-109.
doi.org/10.1016/j.electacta.2011.12.122. 16.

32- Zhang C. Yang L. Rong F. Fu D. Gu Z (2012).
Boron-doped diamond anodic oxidation of

Evaluating the oxidative potential of FeSo₄ and H₂O₂ on neutralization of etidium bromide; a material with cancer inducing characteristic for genomic DNA colouring

Kholghi M.¹, Nuri N.², Rostamzadeh J.³, Jalil sarghale A.¹ and Heidari F.⁴

¹ Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, I.R. of Iran

² Dept. of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, I.R. of Iran

³ Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, I.R. of Iran

⁴ Dept. of Animal Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

In biology considering identification of sequencing of macromolecules, different techniques such as Electrophoresis agarose gel is used after separation from different cells. Ethidium Bromide is one the materials for coloring these gels throughout the world due to it's low price comparing to other materials. In last years, extensive use of his material in biology and medicine labs and due to it's solubility and persistency in water, natural ecosystems contamination has became an important issue. Entering the human body can lead to enhanced cancer incidence by disturbance of blood circulatory system, activation of different tissues and modulation of translation and transcription of DNA process. Several physical and chemical methods has been suggested for neutralization of Ethidium Bromide inducing BDD electrode, TiO₂, activated carbon adsorption and etc. which nearly all of these methods have not been used extensively by investigators due to high price and complex procedures. Fenton's oxidation is one of materials for neutralization of unfavorable chemical compounds and this material has not been studied for neutralization of Ethidium Bromide. Due to high utilization of Ethidium Bromide in labs, the aim of this study was to investigate the potential effect of different levels of two chemical materials Feso₄ and H₂O₂ for neutralization of Ethidium Bromide. 6 treatments including different levels of Feso₄ and H₂O₂ were investigated. The treatment containing 200 Mg / liter of Feso₄ along with 300 Mg / liter H₂O₂ had the most potential for neutralization of Ethidium Bromide comparing to other treatments.

Keywords: Ethidium Bromide, Oxidizing, FeSo₄ · H₂O₂ and Genomic DNA