



غربالگری جدایه های باکتریهای اسید لاکتیک مصرف کننده جیوه و کادمیم و بررسی حذف این فلزات از محلول های آبی توسط سویه های منتخب در فرم غیر فعال تحت تاثیر پیش تیمارهای اولتراسوند و حرارتی

سید حبیب میرابوالحسنی^۱، محمد باقر حبیبی نجفی^۲، محمدرضا عدالتیان دوم^۳

۱- دانشجوی دکتری گرایش زیست فناوری غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- استاد بازنشسته گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد..

۳- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

آدرس پست الکترونیک نویسنده مسئول (Email: edalatian@um.ac.ir)

چکیده

فلزات سنگین مانند کادمیم و جیوه به دلیل پایداری و سمیت بالا از مهم ترین آلاینده های محیط زیست محسوب می شوند. در این پژوهش، توانایی ۱۰ گونه از جنس انتروکوکوس، به عنوان باکتری های اسید لاکتیک در حذف کادمیم و جیوه از محلول های آبی بررسی شد. آزمایش ها در دو فرم فعال و غیرفعال (با استفاده از تیمار اولتراسوند و اتوکلاو) انجام گرفت. در فرم فعال، تمام سویه ها توانایی کاهش هر دو فلز را نشان دادند. در فرم غیرفعال، حذف جیوه در تیمار اولتراسوند بالاتر از اتوکلاو بود، به طوری که بیشترین حذف جیوه در اولتراسوند توسط سویه *E. thailandicus* با ۹۶/۲۴٪ و در اتوکلاو توسط *E. faecium* با ۹۴/۳۲٪، کاهش مشاهده شد. بیشترین حذف کادمیم در فرم غیرفعال اولتراسوند مربوط به *E. thermophilus* با ۵۳/۰۴٪ و در فرم اتوکلاو مربوط به *E. faecium* با ۵۲/۲۱٪، کاهش بود. نتایج نشان می دهد که گونه های *Enterococcus*، چه در حالت فعال و چه غیرفعال، توانایی قابل توجهی در حذف فلزات سنگین دارند و می توانند به عنوان گزینه های زیستی مؤثر در پالایش محیط های آلوده مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: فلزات سنگین، جاذب های زیستی، فرم غیر فعال، اولتراسوند.

مقدمه:

آلودگی به فلزات سنگین در زنجیره غذایی به دلیل سمیت این گروه از مواد، یکی از نگرانی های اصلی جهانی است که تهدیدی جدی برای سلامت انسان به شمار می رود. در دهه های اخیر، با توسعه بخش های مختلف فعالیت های انسانی نظیر ساخت و ساز، حمل و نقل، استفاده از آفت کش ها، مواد شیمیایی، صنایع معدن و غیره، آلودگی با فلزات سنگین در محیط زیست افزایش یافته است. این فلزات سنگین به دلیل ویژگی هایی چون قابلیت انباشت در بافت های بیولوژیکی و اثرات سمی حتی در مقادیر اندک، یکی از تهدیدات جدی برای سلامت انسان و محیط زیست محسوب می شوند. از جمله فلزات سنگین سمی می توان به کادمیوم، سرب، جیوه و آرسنیک اشاره کرد که در صورت تجمع در بدن، می توانند موجب بروز مشکلات جدی همچون بیماری های کلیوی، سرطان، آسیب به سیستم عصبی و حتی مرگ شوند (Rajaganapathy et al., 2011; Ayangbenro & Babalola, 2017).

آلودگی آب و غذا با فلزات سنگین به ویژه در کشورهای صنعتی و در حال توسعه، به دلیل فعالیت های صنعتی، استخراج معادن، و استفاده از آفت کش ها در کشاورزی در حال افزایش است. این آلودگی ها در نهایت از طریق مصرف مواد غذایی و آب آلوده به بدن انسان منتقل می شوند. از آنجایی که فلزات سنگین قادر به تجمع در زنجیره غذایی هستند، خطرات سلامتی این مواد در بلندمدت بسیار جدی است. شیر و محصولات لبنی به عنوان منابع غنی از مواد مغذی همچون پروتئین، کلسیم، فسفر و ویتامین ها در رژیم غذایی انسان نقش بسزایی دارند. متأسفانه، این محصولات غذایی نیز می توانند در معرض آلودگی با فلزات سنگین قرار گیرند، به ویژه هنگامی که خوراک دام یا منابع آب آن ها آلوده به این فلزات باشد. (Qin et al., 2009; Rahimi, 2013).

در این راستا، استفاده از روش های بیوتکنولوژیکی مانند میکروارگانیسم های پروبیوتیک، به عنوان یک راهکار ارزان و سبز برای کاهش این آلودگی ها، به طور فزاینده ای مورد توجه قرار گرفته است. برخی از باکتری های اسید لاکتیک قادر به مصرف فلزات سنگین همچون کادمیوم و جیوه هستند و می توانند به عنوان جاذب های زیستی در فرآیند حذف این آلاینده ها از مواد غذایی عمل کنند.

علاوه بر این، پیش تیمارهای فیزیکی مانند اولتراسوند و حرارت می توانند به بهبود عملکرد این میکروارگانیسم ها و افزایش توانایی آن ها در حذف فلزات سنگین کمک کنند. اولتراسوند با ایجاد اختلال در دیواره های سلولی باکتری ها می تواند فعالیت آن ها را افزایش دهد و حرارت نیز می تواند (Zhao et al., 2018) شرایط مناسب تری برای رشد و فعالیت این میکروارگانیسم ها فراهم کند.

این تحقیق به بررسی تأثیر پیش تیمارهای اولتراسوند و حرارتی (اتوکلاو) بر عملکرد سویه های باکتری های اسید لاکتیک در حذف جیوه و کادمیم از محلول های آبی می پردازد. نتایج این تحقیق می تواند به عنوان راهکاری مؤثر برای کاهش آلودگی فلزات در محلول های آبی، با استفاده از روش های بیولوژیکی و سبز، ارائه شود.

فلزات سنگین آب شامل موادی هستند که در آب به صورت یونی حل می شوند و دارای وزن مخصوص بالایی هستند. وجود این فلزات در آب آشامیدنی و آب مورد استفاده در صنایع مختلف می تواند عامل بروز مشکلات بسیاری باشد. به همین خاطر در فرایند تصفیه آب یکی از کارهایی که انجام می شود حذف فلزات سنگین آب است.

اسید لاکتیک باکتری ها

اسید لاکتیک باکتری ها به دلیل عملکرد، عدم بیماری زاوی و عدم سمیت عمومی، سازگاری با دستگاه گوارش، کمک به تعادل میکروبی و هموستاز میزبان از مفیدترین میکروارگانیسم ها در صنایع غذایی می باشند (ذوقی و همکاران، ۲۰۱۷) آنها گرم مثبت، ارگانوتروف، مقاوم به اسید، غیر اسپورزا هستند، با قابلیت تولید اسید لاکتیک پس از تخمیر کربوهیدرات می باشند. مزایای سلامتی متعددی را می توان با وجود لاکتوباسیل



های مختلف در دستگاه گوارش (GIT) و سایر اعضای بدن انسان و سایر حیوانات مرتبط دانست، از جمله نقش مفید آنها شامل پیشگیری از عدم تحمل لاکتوز، کمک به افزایش سیستم ایمنی در دستگاه گوارش، کنترل هیپوکلسترولمی، مهار بیماری التهاب روده، کمک به بهبود اسهال، حذف پاتوژن های روده مانند هلیکوباکتر پیلوری، دارای اثرات ضد سرطانی و ضد جهش زایی می باشد (A. Perczak, P. Golinski, M. Bryła, A. Wałskiewicz, 2018)

فلزات و عناصر مختلفی در آب وجود دارد اما تنها گروه خاصی از این عناصر در دسته فلزات سنگین قرار می گیرند. برخی از فلزات سنگین آب عبارتند از:

- سرب (Pb): سرب یک فلز سنگین است که به صورت یونی در آب حل می شود. سرب به دلیل خواص سمی خود، معمولاً در آبهای آشامیدنی و محصولات غذایی غیرمجاز است.
- جیوه (Hg): جیوه یا روی، یک فلز سنگین و سمی است که به صورت یونی در آب حل می شود. مصرف آبهای حاوی جیوه می تواند برای سلامتی انسان ها و محیط زیست آسیب های جدی ایجاد کند.
- کادمیوم (Cd): کادمیوم نیز یک فلز سنگین دیگر است که به صورت یونی در آب حل می شود. مصرف آبهای حاوی کادمیوم می تواند برای سلامتی انسان ها و محیط زیست خطراتی ایجاد کند.
- آرسنیک (As): آرسنیک یک فلز سنگین و سمی است. مصرف آبهای حاوی آرسنیک می تواند برای سلامتی انسان ها و محیط زیست خطراتی ایجاد کند.
- کروم (Cr): کروم نیز یک فلز سنگین است که به صورت یونی در آب حل می شود. مصرف آبهای حاوی کروم در مقادیر بالا می تواند برای سلامتی انسان ها و محیط زیست مضر باشد.

مهم است بدانید که حضور این فلزات سنگین در آب به میزان زیاد می تواند برای سلامتی انسان ها و محیط زیست آسیب های جدی ایجاد کند. بنابراین، کنترل و حذف فلزات سنگین آب بسیار حائز اهمیت است.

مکانیسم سم زدایی توسط سویه های اسید لاکتیک باکتری ها:

در فرایندهای جذب فلزات سنگین توسط این گروه باکتریها جذب فیزیکی بیشتر از اتصال کووالانسی شیمیایی نقش دارد (Zoghi et al. 2014)

با توجه به تحقیقات بدست آمده، اولین گزارش در مورد کاربرد بالقوه سویه لاکتوباسیلوس (ها) توسط Hao و همکاران (در سال ۲۰۱۶) درخصوص حذف کادمیوم توسط گونه *L. plantarum* بود. از آن زمان، پروژه های دیگری در این زمینه کار شده است که در این پروژه ها محققین به دنبال ایجاد شرایط بهینه از نقطه نظرهای اقتصادی، محیطی و سایر شرایط در خصوص حذف متابولیت های سمی و حذف فلزات سنگین از مواد غذایی (مواد خام و محصولات غذایی) بوده اند.



استاندارد فلزات سنگین در آب آشامیدنی

جیوه (Hg): بر اساس استانداردهای سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا (Environmental Protection Agency (EPA)، حداکثر مقدار مجاز جیوه در آب آشامیدنی ۲ میکروگرم بر لیتر است.

کادمیوم (Cd): بر اساس استانداردهای WHO (World Health Organization)، حداکثر مقدار مجاز کادمیوم در آب آشامیدنی ۳ میکروگرم بر لیتر است.

روش پژوهش (مواد، روشها، تجهیزات و ...)

۱- مواد:

۱-۱- گونه باکتریایی:

گونه های باکتری های اسید لاکتیک پس از بررسی صحت عملکرد در توانایی حذف و یا کاهش فلزات سنگین جیوه و کادمیم و انجام آزمایشات مربوطه در جهت توانایی حذف فلزات سنگین مورد نظر (ترجیها از بانک میکروبی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی) تهیه گردید. باکتریها در ۱۰ میلی لیتر محیط کشت MRS براث تلقیح و سپس به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. میزان زنده ماندن باکتریها در محیط آبگوشت فوق با شمارش تعداد کلونی ها بروش کشت سطحی در MRS آگار و پلیت کانت آگار تعیین شد Vinderola, C. G., & Reinheimer, J. A. (2000).

سپس با استفاده از پیش تیمارهای حرارتی و اولتراسوند باکتری ها به فرم غیر فعال تبدیل شدند .

۱-۲- محلول های استاندارد: محلول استاندارد جیوه و کادمیم (۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر ، شرکت مرک آلمان.

۱-۳- محیط های کشت:

MRS آگار ، آبگوشت MRS یا MRS Broth ، و پلیت کانت آگار از شرکت Liofilchem تهیه شد.

۲- تجهیزات:

۱-۲- دستگاه جذب اتمی:

دستگاه جذب اتمی با تکنیک کوره جهت اندازه گیری کادمیم و تکنیک هیدرید جهت تعیین جیوه.

در تعیین کادمیم از روش اتمیک ابزوربشن و کوره AAS-Furnace استفاده شد و جهت تعیین میزان جیوه از روش هیدرید ژنراتور و بخار سرد Cold Vapor استفاده گردید. قبل از انجام آزمایشات منحنی های استاندارد توسط محلولهای آبی رسم گردید (روش استاندارد).

۲-۲- دستگاه کوره الکتریکی :

در این تحقیق جهت بررسی میزان کادمیم از روش سوزاندن در کوره و هضم توسط اسید نیتریک و اسید کلرید ریک استفاده گردید (روش استاندارد).

۲-۳- سیستم هضم مرطوب :



- جهت تعیین میزان جیوه از روش هضم مرطوب توسط اسید نیتریک، اسید کلریدریک و آب اکسیژنه استفاده گردید. (روش استاندارد)
- 4-2- سیستم اولتراسوند :
- جهت پیش تیمار باکتریهای اسید لاکتیک و تبدیل فرم فعال active به فرم غیر فعال passive و بررسی تاثیر آن روی میزان جذب فلز سنگین.
- 5-2- سیستم اتوکلاو :
- جهت پیش تیمار حرارتی و inactive کردن باکتریهای اسید لاکتیک و بررسی تاثیر آن روی میزان جذب در فرم passive.
- 6-2- دستگاه اسپکتروفتومتر :
- جهت تعیین میزان غلظت باکتریایی در محلول های تهیه شده در طول موج 600nm

کشت و آماده سازی سوش های باکتریایی:

10 سوش مختلف باکتری های اسید لاکتیک که در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی از کشک ایرانی جداسازی گردیده است از فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد خارج شدند. هر سوش در محیط Brain Heart Infusion تلقیح و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد. سپس به صورت خطی در محیط MRS Agar (*Man, Rogosa, Sharpe*) کشت و مجدداً در ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. رنگ آمیزی گرم و تست کاتالاز انجام شد (همگی گرم مثبت و کاتالاز منفی بودند)

نمونه ها در محیط MRS Broth کشت داده شده و بعد از ۲۴ ساعت برای آزمایش آماده شدند.

سوش های مورد استفاده در این تحقیق:

1. T20: *Entrococcus faecium* , 2. S21: *E. thermophilus* 3. S1: *E. faecium* , 4. R50: *E. thailandicus*
5. K63: *E. durans* , 6: T52: *E. faecium* , 7: K48: *E. faecium* , 8: R38: *E. faecium* 9. T11: *E. thailandicus*,
۱۰. K61: *E. durans*

که همگی از کشک ایرانی جداسازی شده اند.

استاندارد سازی مقدار باکتری:

ابتدا از سوش های باکتریایی کشت شده در محیط MRS Agar سوسپانسیونی در PBS با PH = 7 تهیه شدند بطوریکه در 600nm جذبی در حدود 0.25 ± 0.03 داشته باشد که حدود $10^8 - 10^7$ cfu/ml باکتری خواهیم داشت.

بررسی حذف فلزات در فرم فعال:

به هر لوله که حاوی ۹ سی سی سوسپانسیون باکتریایی میباشد 1cc محلول استاندارد ۴۰۰ ppb جیوه و کادمیوم اضافه شد. لوله ها به مدت 12 ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پس از انکوباسیون، سانتریفیوژ $8000 \times g$ به مدت 15 دقیقه انجام شد، Li W, Chen Y et. al (2021) و میزان فلزات باقی مانده در مایع رویی اندازه گیری شد.

بررسی حذف فلزات در فرم غیرفعال:

محلول های استاندارد باکتریایی که قبلاً تهیه گردیده و دارای $10^8 - 10^7$ cfu/ml باکتری میباشدند به دو روش غیرفعال شدند:



۱. اتوکلاو 121 درجه سانتی گراد، ۱۵ دقیقه، فشار ۱،۵ بار.

۲. اولتراسوند 30:دقیقه در حمام اولتراسوند.

به لوله های حاوی ۹ سی سی سوسپانسیون با کتریایی غیر فعال شده با دوروش فوق نیز 1cc محلول استاندارد ۴۰۰ ppb جیوه و کادمیوم اضافه شد. لوله ها به مدت 12 ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پس از انکوباسیون، سانتیفریوژ $8000 \times g$ به مدت 15 دقیقه انجام شد و میزان فلزات باقی مانده در مایع رویی اندازه گیری شد.

درصد حذف طبق فرمول زیر بررسی میگردد:

$$\% \text{Removal} = 100 \times [(C_0 - C_1) / C_0]$$

جایی که C_0 مقدار اولیه و C_1 غلظت فلز باقیمانده است

آنالیز آماری: آزمایش ها همگی در دو تکرار انجام شدند. میانگین داده ها و انحراف معیار با نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۰ محاسبه گردید. آنالیز آماری با نرم افزار مینی تب صورت گرفت. تعداد باکتری ها ۱۰ سویه و دو تیمار اولتراسوند و اتوکلاو انجام شد. و یک نمونه شاهد یا کنترل بدون تیمار نیز وجود داشت.

نتایج و بحث

۱. فرم فعال:

تمامی سوش ها کاهش در میزان جیوه و کادمیوم نشان دادند. مؤثرترین سوش در حذف جیوه، سویه *K63: E. durans*

است که $2/27$ ppb میزان جیوه باقی مانده در سوپرناتانت را نشان داده است (جدول ۱). میزان کاهش جیوه در سایر سوش ها بین $2/27$ تا $19/5$ ppb، متغیر بود. مؤثرترین سوش در کاهش کادمیوم *K61: E. durans* بود که $22/5$ ppb میزان کادمیم باقی مانده پس از جذب توسط این سویه بوده است (جدول ۱).



جدول ۱. میانگین میزان فلز جیوه و فلز کادمیم باقی مانده پس از جذب توسط ۱۰ سویه انتروکوکوس ایزوله شده در حالت فعال از کشک مورد آزمایش.

میانگین میزان فلز کادمیم باقی مانده پس از جذب توسط باکتری	میانگین میزان فلز جیوه باقی مانده پس از جذب توسط باکتری	میزان جیوه اضافه شده ppb	سویه استفاده شده
42.0±2.28	19.5±0.98	50	1. T20: <i>E. faecium</i>
46.5±2.12	10.25±1.37	50	2. S21: <i>E. thermophilus</i>
45.0±4.24	7.67±0.61	50	3. S1: <i>E. faecium</i>
35.5±3.53	3.74±0.69	50	4. R50: <i>E. thailandicus</i>
41.0±2.82	2.27±0.23	50	5. K63: <i>E. durans</i>
40.5±2.12	6.86±0.35	50	6. T52: <i>E. faecium</i>
31.0±2.82	3.84±0.57	50	7. K48: <i>E. durans</i>
44.5±0.7	2.33±0.31	50	8. R38: <i>E. faecium</i>
35.5±3.53	4.92±0.36	50	9. T113: <i>E. thailandicus</i>
22.5±4.94	9.35±2.35	50	10. K61: <i>E. durans</i>

فرم غیرفعال:

حذف جیوه در روش اولتراسوند بیشتر از اتوکلاو بود. سویه R50: *E. thailandicus* در روش اولتراسوند بیشترین کاهش را نشان داد یعنی ۱/۸۸ ppb باقی مانده از ۵۰ ppb غلظت اولیه یعنی حدود ۹۶/۲۴٪ حذف جیوه. روش اتوکلاو در بعضی موارد تأثیر کمتری داشت. در روش اتوکلاو سویه S1: *E. faecium* کمترین باقی مانده جیوه: ۲/۸۴ ppb یعنی حدود ۹۴/۳۲٪ حذف شده است.

جدول ۲- میانگین میزان جیوه باقی مانده در سوپرناتانت باکتری به دو روش پیش تیمار اتوکلاو و اولتراسوند.

میانگین میزان جیوه باقی مانده به روش اولتراسوند	میانگین میزان جیوه باقی مانده به روش اتوکلاو	میزان جیوه اضافه شده ppb	سوش استفاده شده
2.5±0.55	3.09±0.14	۵۰	1. T20: <i>E. faecium</i>
2.66±0.62	4.18±0.09	۵۰	2. S21: <i>E. thermophilus</i>
2.16±0.7	2.84±0.72	۵۰	3. S1: <i>E. faecium</i>
1.88±0.0	4.37±1.16	۵۰	4. R50: <i>E. thailandicus</i>
2.28±0.07	3.77±0.31	۵۰	5. K63: <i>E. durans</i>
2.56±0.63	3.05±0.24	۵۰	6. T52: <i>E. faecium</i>
3.1±0.16	4.83±0.39	۵۰	7. K48: <i>E. durans</i>
2.1±0.17	3.11±0.17	۵۰	8. R38: <i>E. faecium</i>
2.82±0.23	3.94±0.084	۵۰	9. T113: <i>E. thailandicus</i>
3.68±0.6	4.06±0.26	۵۰	10. K61: <i>E. durans</i>

مقایسه حذف کادمیوم:

در کاهش کادمیوم نیز روش اولتراسوند مؤثرتر از اتوکلاو بوده است. بیشترین حذف کادمیوم در فرم غیرفعال (اولتراسوند) مربوط به *S21: E. thermophilus* است که میزان ۱۴/۱ ppb کادمیم باقی مانده پس از جذب توسط سویه مورد نظری باشد. در روش اتوکلاو، *T52: E. faecium* بهترین عملکرد را داشت که میزان ۱۴/۳۵ ppb کادمیم باقی مانده پس از جذب توسط سویه مورد نظر است.

جدول ۳- میانگین میزان کادمیم باقی مانده در سوپرناتانت باکتری به دو روش پیش تیمار اتوکلاو و اولتراسوند.

میانگین میزان کادمیم باقی مانده به روش اولتراسوند	میانگین میزان کادمیم باقی مانده به روش اتوکلاو	میزان کادمیم اضافه شده ppb	سویه مورد استفاده
17.05±0.63	22.75±1.06	30	1. T20: <i>E. faecium</i>
14.1±0.98	21.5±0.7	30	2. S21: <i>E. thermophilus</i>

3. S1: <i>E. faecium</i>	30	19.2±0.42	18.2±0.98
4. R50: <i>E. thailandicus</i>	30	17.35±0.63	17.1±2.12
5. K63: <i>E. durans</i>	30	17.75±3.18	20.4±0.84
6. T52: <i>E. faecium</i>	30	14.35±0.77	17.45±2.19
7. K48: <i>E. durans</i>	30	20.4±0.84	19.95±1.48
8. R38: <i>E. faecium</i>	30	17.15±0.63	14.95±0.77
9. T113: <i>E. thailandicus</i>	30	16.95±1.48	16.9±0.14
10. K61: <i>E. durans</i>	30	19.9±1.55	16.2±0.98

۲. تأثیر شرایط محیطی:

افزایش دما و فشار (اتوکلاو) در برخی سوش ها تأثیر منفی داشت و باعث کاهش ظرفیت جذب فلز شد. روش اولتراسوند در مقایسه با اتوکلاو، سلول های غیرفعال را حفظ کرده و باعث عملکرد بهتر در حذف فلزات شد.

داده های جدول ۱ نشان می دهند که در فرم فعال باکتری ها (تیمار نشده)، توانایی باکتری ها در میزان جذب فلز جیوه بیشتر از میزان جذب فلز کادمیم بوده است.

ترتیب باکتری ها از نظر قدرت کاهش جیوه در دو روش غیر فعال سازی تا حدودی قابل مقایسه است. (جدول ۲) بدین معنی که باکتری های (*E. faecium* و *E. thailandicus*) در هر دو روش قدرت بالایی در جذب فلز جیوه داشته اند و باکتری های

K61: *E. durans* و K48: *E. durans* نیز به ترتیب در دو روش اتوکلاو و اولتراسوند، کمترین قدرت را نشان دادند. بنابراین نتایج مقدماتی نشان می دهد که پر قدرت ترین باکتری برای کاهش جیوه در دو روش غیر فعال سازی متعلق به دو گونه متفاوت می باشند که در روش اتوکلاو، باکتری انتروکوکوس فاسیوم، ۹۴/۳۲ درصد کاهش یا جذب فلز جیوه را داشته است که بیشترین میزان جذب در روش اتوکلاو بوده است و کمترین میزان جذب فلز جیوه در روش اتوکلاو، ۹۰/۳۴ بوده است.

در روش اولتراسوند برای جیوه، ۹۶/۲۴ درصد بیشترین میزان جذب فلز جیوه در روش اولتراسوند و ۹۲/۶۴ کمترین میزان جذب فلز جیوه در روش اولتراسوند بوده است.

ترتیب باکتری ها از نظر قدرت کاهش کادمیم در دو روش غیر فعال سازی تا حدودی قابل مقایسه است. (جدول ۳) بدین معنی که باکتری های و (*T52: E. faecium* و *S21: E. thermophilus*) به ترتیب در دو روش اتوکلاو و اولتراسوند، قدرت بالایی در جذب فلز کادمیم داشته اند. همچنین باکتری های *T20: E. faecium* و *K63: E. durans* نیز به ترتیب در دو روش اتوکلاو و اولتراسوند، کمترین قدرت جذب کادمیم را نشان دادند. بنابراین نتایج مقدماتی نشان می دهد که پر قدرت ترین باکتری برای کاهش کادمیم در دو روش غیر فعال سازی متعلق به دو



گونه متفاوت می باشند که در روش اتوکلاو، باکتری انتروکوکوس فاسیوم، ۵۲/۲۱ درصد کاهش یا جذب فلز کادمیم را داشته است که بیشترین میزان جذب در روش اتوکلاو بوده است و کمترین میزان جذب فلز کادمیم ۲۴/۲۴ در روش اتوکلاو، بوده است. در روش اولتراسوند برای کادمیم، ۵۳/۰۴ درصد بیشترین میزان جذب فلز کادمیم در روش اولتراسوند و ۳۲/۰۶ کمترین میزان جذب فلز کادمیم، در روش اولتراسوند بوده است.

نتیجه گیری نهایی:

- در فرم فعال (تیمار نشده) برخی از باکتری های اسید لاکتیک به ویژه *E. durans* توانایی بالایی در حذف فلزات سنگین از محلول آبی را دارند.
- در فرم غیر فعال، گونه های *E. faecium* و *E. thailandicus* برای فلز جیوه و گونه های *E. faecium* و *E. thermophilus* برای فلز کادمیم، بیشترین توانایی نشان دادند.
- استفاده از اولتراسوند در غیرفعال سازی باکتری ها عملکرد بهتری نسبت به اتوکلاو در جذب فلزات نشان داد.
- این یافته ها می توانند در ایمنی مواد غذایی و کاهش آلودگی های فلزی در صنایع لبنی مؤثر باشند.
- برای افزایش کارایی، ترکیب روش های مختلف غیرفعال سازی و بررسی شرایط بهینه جذب فلزات پیشنهاد می شود.

نتایج آزمایش مقدماتی نشان می دهد که:

بدون توجه به نوع باکتری، برای کاهش جیوه غیر فعال سازی به روش اولتراسوند بطور معنی داری موثر تر از روش اتوکلاو است در حالیکه برای کاهش کادمیم نتیجه معکوس بوده و روش اتوکلاو به طور معنی داری بهتر از اولتراسوند عمل کرده است.

منابع

- 1-Ayangbenro AS, Babalola OO. A new strategy for heavy metal polluted environments: a review of microbial biosorbents. International journal of environmental research and public health. 2017 Jan;14(1):94.
- 2-Derakhshesh SM, Rahimi E. Determination of lead residue in raw cow milk from different regions of Iran by flameless atomic absorption spectrometry
- 3-Hao OJ, Kim H, Chiang PC. Decolorization of wastewater. Critical reviews in environmental science and technology. 2000 Oct 1;30(4):449-505.
- 4- Halttunen T, Collado MC, El- Nezami H, Meriluoto J, Salminen S. Combining strains of lactic acid bacteria may reduce their toxin and heavy metal removal efficiency from aqueous solution. Letters in applied microbiology. 2008 Feb 1;46(2):160-5.
- 5- Hatab S, Yue T, Mohamad O. Removal of patulin from apple juice using inactivated lactic acid bacteria. Journal of applied microbiology. 2012 May 1;112(5):892-9.



- 6- Perczak A, Goliński P, Bryła M, Waśkiewicz A. The efficiency of lactic acid bacteria against pathogenic fungi and mycotoxins. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*. 2018 Mar 20;69(1):32-44.
- 7- Qin LQ, Wang XP, Li W, Tong X, Tong WJ. The minerals and heavy metals in cow's milk from China and Japan. *Journal of health science*. 2009;55(2):300-5.
- 8- Rajaganapathy V, Xavier F, Sreekumar D, Mandal PK. Heavy metal contamination in soil, water and fodder and their presence in livestock and products: a review. *Journal of environmental science and technology*. 2011;4(3):234-49.
- 9- Singh AL, Sarma PN. Removal of arsenic (III) from waste water using *Lactobacillus acidophilus*. *Bioremediation Journal*. 2010 May 13;14(2):92-7.
- 10- Vinderola CG, Reinheimer JA. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. *International dairy journal*. 2000 Jan 1;10(4):271-5.
- 11-Zoghi A, Khosravi-Darani K, Sohrabvandi S. Surface binding of toxins and heavy metals by probiotics. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2014 Jan 1;14(1):84-98.

Screening of lactic acid bacteria isolates consuming mercury and cadmium and investigating the removal of these metals from aqueous solutions by selected strains in inactive form under the influence of ultrasound and thermal pretreatments

Abstract

Heavy metal contamination in the food chain is a critical global concern due to the high toxicity and bio accumulative nature of these pollutants. Industrial activities such as construction, transportation, pesticide use, and mining have significantly increased the release of metals like cadmium and mercury into the environment, posing severe health risks including kidney disorders, cancer, and neurological damage. Biotechnological approaches, particularly the application of probiotic microorganisms, have emerged as eco-friendly and cost-effective strategies for heavy metal removal. In this study, the ability of ten *Enterococcus* species, as lactic acid bacteria, to remove cadmium and mercury from aqueous solutions was evaluated in both active and inactive forms (treated by ultrasound or autoclave). All strains in the active form reduced both metals effectively. In the inactive form, mercury removal was higher with ultrasound than with autoclaving; the highest mercury reduction was observed in *E. thailandicus* (96.24%) for ultrasound and *E. faecium* (94.32 %) for autoclaving. The highest cadmium removal in the ultrasound-inactivated form was recorded for *E. thermophilus* (53.04 %), while *E. faecium* showed the highest removal in the autoclave-inactivated form (52.21 %). These results demonstrate the considerable potential of *Enterococcus* species, in both active and inactive states, as promising bio sorbents for the remediation of heavy metal-contaminated environments.



Keywords: Heavy metals, bio sorbents, Enterococcus, inactivation, ultrasound