مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

سم زدایی فلزات سنگین توسط باکتری‌های پروبیوتیک: بررسی تاثیر دما، زمان و نوع باکتری بر میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم با استفاده از روش سطح پاسخ

سید محمد باقر هاشمی*[۱]، شیما کاوه[۲]، علی پورکریمی[۳]

۱-دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فسا، فسا، ایران.

۲-دانش آموخته‌ی دکتری شیمی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانسکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۳-استادیار بخش مهندسی عمران، دانشکده مهندسی، دانشگاه فسا، فسا، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۲۱

کلمات کلیدی:

باکتری‌های اسید لاکتیک،

سرب،

جذب زیستی،

فلزات سنگین،

کادمیوم

DOI:10.22034/FSCT.22.159.195.

* مسئول مکاتبات:

hasshemii@gmail.com

چکیده

آلودگی در مناطق صنعتی به دلیل رهایش فلزات سنگین یکی از نگرانی‌های مهم زیست محیطی است. فلزات سنگین می‌توانند تاثیرات بسیار نامطلوبی بر سلامت انسان و حیوانات داشته باشند. در این راستا همچنین محصولات غذایی آلوده به فلزات سنگین حتی در غلظت های کم، می‌توانند اثرات مضری را بر سلامتی انسان داشته باشند. در این راستا استفاده از میکروارگانیسم‌ها به عنوان روشی جدید و کم هزینه جهت حذف بیولوژیکی فلزات شناخته شده است. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر نوع میکروارگانیسم (باکتری‌های *Lactobacillus ،Lactiplantibacillus paraplantarum paragasseri* و *Limosilatobacillus reuteri*) مورد استفاده، دما و زمان انکوباسیون بر میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم با استفاده از روش سطح پاسخ بود. نتایج نشان داد که میزان حذف فلز سرب با استفاده از میکروارگانیسم‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر از کادمیوم بود. و افزایش زمان از ۰ تا ۲۴ ساعت به طور معنی داری باعث افزایش میزان حذف فلزات گشت. افزایش دما تا حدود ۳۸ درجه تاثیری مثبت بر میزان حذف فلزات داشت اما افزایش بیشتر دما از توانایی میکروارگانیسم‌ها جهت حذف فلزات کاست. به‌طور کلی نرم افزار شرایط بهینه جهت دستیابی به بیشترین میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم به‌ترتیب به میزان ۴۵/۹ و ۳۹/۶۵ درصد را زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت و دمای ۳۳/۹۸ درجه سانتی گراد با استفاده از باکتری *Lactobacillus paragasseri* تعیین کرد. بنابراین با توجه به نتایج این پژوهش استفاده از میکروارگانیسم‌ها همچون *Lactobacillus paragasseri* راهکاری مفید جهت حذف فلزات سنگین از منابع مختلفی همچون پساب‌های صنعتی می‌باشد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195]

۱-مقدمه

توسعه سریع صنایع و شهرنشینی به ویژه در کشورهای در حال توسعه باعث افزایش چشمگیر میزان در معرض قرار گرفتن انسان‌ها به فلزات سنگین شده است. مطالعات نشان داده است که تماس با سطوح بالای فلزات سنگین اندام‌ها و سیستم‌های مختلف بدن از جمله کلیه ها، کبد، سیستم عصبی مرکزی و سیستم تولید مثل آسیب های شدیدی وارد می‌کند[۱]. تاکنون بیش از ۲۰ نوع فلزات سنگین شناسایی شده‌اند که در میان آنها کادمیوم (Cd)، سرب (Pb) و آرسنیک (As) به‌عنوان خطرناک‌ترین عناصر معرفی شده‌اند [۲]. بر اساس مدت زمان، در معرض قرار گرفتن فلزات سنگین عمدتاً به سه گروه حاد (۱۴-۱ روز)، متوسط (۳۵۴-۱۵ روز) و مزمن (≤۳۶۵ روز) تقسیم بندی می‌شوند. در مقایسه با مسمومیت حاد با فلزات سنگین که معمولاً توسط تماس با پوست، استنشاق مقادیر زیادی بخار حاوی فلزات سنگین یا استفاده نادرست از دارو در مدت زمان کوتاه ایجاد می‌شود، مسمومیت مزمن با فلزات سنگین ناشی از در معرض قرار گرفتن فلزات سنگین به صورت نامحسوس روزانه از طریق غذا، آب، هوا یا پوست ایجاد می‌شود که یک تهدید جدی برای سلامت عمومی است [۳]. به‌طور کلی اثرات نامطلوب فلزات سنگین شامل سرکوب سیستم ایمنی، سرطان زایی، اختلال در سیستم عصبی به‌ویژه در کودکان و مهار فعالیت برخی از آنزیم‌های حیاتی مربوط به سنتز مولکول‌های زیستی می‌شود [۴]. به‌منظور حذف فلزات سنگین روش‌های مختلفی ارائه شده است از جمله فرآیند اکسیداسیون احیاء شیمیایی، فرآیند جذب، و بازیابی الکترولیتی، اما کاربرد گسترده این روش‌ها به‌دلیل هزینه‌های سنگین و یا عدم سازگاری با محیط زیست با محدودیت مواجه است [۵]. در دهه ۱۹۹۰، حوزه جدیدی جهت بازیابی و حذف فلزات سنگین با استفاده از روش‌های بیولوژیکی به‌عنوان روشی کم هزینه معرفی شد [۶]. در این روش از میکروارگانیسم‌ها یا زیست توده‌های آنها جهت جذب فلزات سنگین استفاده می‌شود [۷]. جذب فلزات توسط میکروارگانیسم‌ها به‌دلیل وجود مولکول‌های حاوی گروه عاملی هیدروکسیل و کربوکسیلیک درسطوح باکتری‌ها می باشد که توانایی برقراری اتصال شیمیایی با فلزات سنگین را دارند که در نتیجه باعث جذب و ترسیب فلزات می‌شود [۸]. مطالعات نشان داده است که فلزات سنگین از طریق سه مکانیسم ۱) اتصال به پپتیدوگلیکان‌ها و اسیدهای تیکوئیک با واکنش‌های تبادل یونی، ۲) ترسیب از طریق واکنش‌های هسته ای و ۳) تشکیل کمپلکس با لیگاندهای نیتروژن و اکسیژن [۹]. مطالعات نشان داده است که جذب کادمیوم و سرب از محلول های آبی بسیار سریع می‌باشد، بنابراین مکانیسم اتصال غیر فعال فلزات به سطح باکتری در مقایسه با تجمع داخل سلولی به‌عنوان مکانیسم اصلی پیشنهاد شده است [۱۰]. در بسیاری از مطالعات، کارایی مناسب برخی از پروبیوتیک‌ها مانند گونه‌های *Bifidobacterium*، *Lactiplantibacillus paraplantarum*، *Limosilactobacillus reuteri*، *Lactobacillus paragasseri* و برخی از مخمرها جهت سم زدایی و یا از بین بردن فلزات سنگین گزارش شده است [۱۳-۱۱]. در این راستا مطالعات زیادی جهت ارزیابی توانایی باکتری‌های اسید لاکتیک جهت حذف فلزات سنگین انجام شده است. به‌عنوان مثال Kirillova و همکاران (۲۰۱۷) با ارزیابی تاثیر نوع باکتری اسید لاکتیک جهت حذف کادمیوم گزارش دادند که *L. plantarum B-578* و *L. fermentum* 3-3 به ترتیب قادر به حذف ۱۶ و ۱۲ درصد کادمیوم بودند درحالیکه باکتری‌های *L. brevis* 20054، *L. buchneri* 20057 و *L. rhamnosus* I2L قادر به حذف کادمیوم نبودند [۱۳]. در این راستا گزارش شده است که میزان حذف فلزات سنگین توسط میکروارگانیسم‌ها به عوامل مختلفی از جمله گونه‌ی مورد استفاده، دما و pH بستگی دارد [۱۴]. بنابراین تنظیم شرایط بهینه جهت دستیابی به حداکثر میزان بازدهی

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195]

از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این راستا روش سطح پاسخ (RSM)، روشی مناسب برای بهینه سازی فرآیندهای پیچیده می‌باشد که به صورت موفقیت آمیزی برای بهینه‌سازی فرآیندهای صنایع غذایی استفاده می‌گردد. RSMشامل فرآیندهای آماری و ریاضی می‌باشد که میتوان از آن برای بررسی یک یا چند متغیر وابسته و مستقل استفاده نمود، این روش اثر متغیرهای مستقل را به تنهایی و یا به صورت ترکیبی در فرآیند نشان می‌دهد و با ایجاد یک مدل ریاضی به‌صورت دقیق فرآیند را تفسیر می‌کند [۱۵]. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی تاثیر نوع میکروارگانیسم مورد استفاده (باکتری‌های *Lactiplantibacillus paraplantarum* PTCC 1965، *Lactobacillus paragasseri* PTCC 1897 و *Limosilatobacillus reuteri* PTCC 1655)، دما و زمان انکوباسیون بر میزان حذف فلزات کادمیوم و سرب به روش سطح پاسخ بود.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱- سویه های میکروبی

باکتری‌های *Lactiplantibacillus paraplantarum* PTCC 1965، *Lactobacillus paragasseri* PTCC 1897 و *Limosilatobacillus reuteri* PTCC 1655 از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی در شهر تهران (استان تهران، ایران) خریداری شدند. سویه های میکروبی در محیط کشت MRS طبق دستورالعمل مرکز فعال شدند. پس از فعال‌سازی، سلول‌های باکتریایی با استفاده از سانتریفیوژ (Hettich ،آلمان) در ۳۰۰۰×g و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۰ دقیقه از محیط کشت جدا شدند. تعداد اولیه سلول‌ها در محلول نرمال سالین استریل شده رقیق شدند [۱٦].

۲-۲- تست جذب زیستی

محلول‌های استوک سرب و کادمیوم با حل کردن $Pb(NO_3)_2$ و $Cd(NO_3)_2$ در آب مقطر تهیه شد تا غلظت آن به ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر برسد و متعاقباً به غلظت‌های هدف رقیق شد. pH در ٤/۵ توسط HCl (0.1 M) و NaOH (0.1 M) تنظیم شد. سوسپانسیون باکتریایی (log ۷ CFU/mL) به طور جداگانه به ارلن های حاوی سرب و کادمیوم اضافه شد و پس از آن انکوباسیون به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد، ۳۷ درجه سانتی گراد و ٤٤ درجه سانتی گراد در ۱۵۰ دور در دقیقه انجام شد. نمونه برداری هر ٤ ساعت انجام شد. نمونه های شاهد نمونه هایی بودند که فاقد باکتری بودند. در زمان نمونه برداری، سانتریفیوژ در g ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و پس از جداسازی مایع رویی، فیلتر کردن با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ٤۲ انجام شد. غلظت باقیمانده فلزات با جذب اتمی (AA500؛ PG Instruments، انگلستان) تعیین شد [۱۷].

۲-۳-تجزیه و تحلیل آماری

بهینه‌سازی شرایط حذف فلزات سنگین کادمیوم و سرب در قالب طرح مرکب مرکزی و با استفاده از نرم افزار Design expert نسخه ۷ و روش سطح پاسخ انجام گرفت. متغیرهای دما، زمان و نوع باکتری مورد استفاده به‌عنوان متغیرهای مستقل و میزان حذف فلزات کادمیوم و سرب به‌عنوان متغیرهای وابسته در نظر گرفته شدند و اثر هر یک از این متغیرهای مستقل روی متغیرهای وابسته جهت تعیین شرایط جهت دستیابی به بیشنه مقدار حذف فلزات سنگین بررسی شد.

۳-نتایج و بحث

۳-۱- میزان حذف سرب

با توجه به جدول ۱ آنالیز سطح پاسخ نشان داد که اثر متغیرهای دما (A)، زمان (B)، نوع گونه باکتری (C)، A^2، B^2، C^2، AB، BC و AC معنی‌دار و در این میان متغیرهای AB و BC تاثیر معنی‌داری کمتری نسبت به سایر متغیرها از خود نشان دادند ($p<۰/۰۵$). ضریب رگرسیون معادله $R^2=۰/۹۷$ می‌باشدکه نشان می‌دهد مدل توانسته ۹۷ درصد از کل تغییرات در دامنه مقادیر مورد مطالعه را پیش بینی کند

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195]

و مدلی مناسب برای پیش بینی اثر متغیرهای فرآیند بر پاسخ مورد نظر است. رابطه‌ی میزان حذف سرب با پارامترهای واکنش از نوع درجه دوم می‌باشد که با توجه به نوع باکتری مورد استفاده از معادلات ۳-۱ تبعیت می‌کند.

معادله ۱

Pb removal by *Lactiplantibacillus paraplantarum* = (-9.82+0.62 B+ 0.68 A-0.0034 AB-0.0112 B^2-0.0106 A^2)^2 - 0.06

معادله ۲

Pb removal by *Lactobacillus paragasseri* = (-14.87 + 0.65 B + 0.81 A - 0.0034 AB - 0.011 B^2 - 0.0106 A^2)^2 - 0.06

معادله ۳

Pb removal by *Limosilatobacillus reuteri* = (-14.73 + 0.66 B + 0.81 A - 0.0034 AB - 0.011 B^2 - 0.0106 A^2)^2 - 0.06

Table 1- Analysis of variance for Pb removal

	Sum of squares	df	F-value	p-value
Model	292.66	11	188.74	< 0.0001
A-Time	240.37	1	1705.16	< 0.0001
B-Temperature	7.63	1	54.12	< 0.0001
C-Strain	4.82	2	17.08	< 0.0001
AB	1.58	1	11.21	0.0015
AC	1.51	2	5.35	0.0078
BC	8.43	2	29.92	< 0.0001
A^2	24.53	1	174.04	< 0.0001
B^2	3.79	1	26.89	< 0.0001

۲-۳- بررسی تاثیر زمان، دما، نوع باکتری بر میزان حذف سرب

همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است با بکارگیری باکتری *Lactiplantibacillus paraplantarum*، در دماهای ثابت افزایش زمان انکوباسیون از ۰ تا ۲٤ ساعت به‌طور معنی‌داری باعث افزایش میزان حذف سرب شد. از طرف دیگر در زمان‌های ثابت، افزایش دمای انکوباسیون از ۳۰ تا حدود ۳۵ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش میزان حذف سرب شد اما افزایش بیشتر دما تا ٤٤ درجه سانتی گراد تاثیر منفی داشت. به طور کلی بیشترین میزان حذف سرب (٤٤/۹ درصد) در دمای ۳۰/۱٤ درجه سانتی گراد و زمان ۲۳/۷۱ ساعت حاصل شد.

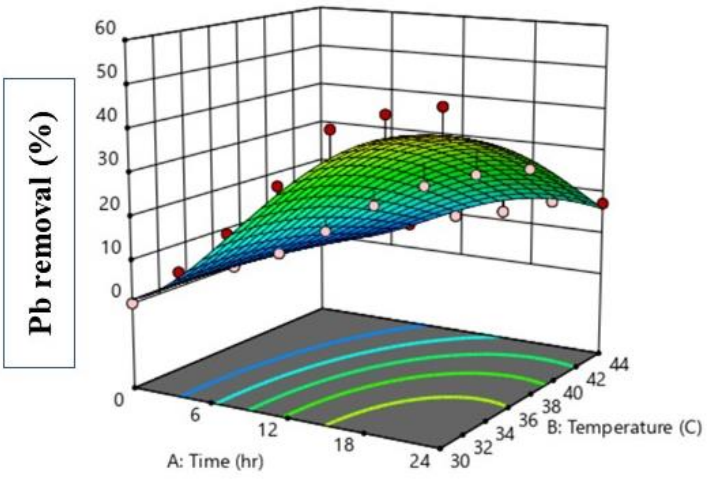


Figure 1- the effect of time and temperature on the Pb removal by *Lactiplantibacillus paraplantarum*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195]

در شکل ۲ تاثیر زمان و دمای انکوباسیون با باکتری *Lactobacillus paragasseri* بر میزان حذف سرب نشان داده شده است. به‌طور کلی در دماهای ثابت انکوباسیون افزایش زمان از ۰ تا ۲٤ ساعت به طور قابل توجهی باعث افزایش میزان حذف سرب شد. به طور مثال در دمای ثابت ۳۷ درجه سانتی گراد، افزایش زمان از ۰ تا ۲٤ ساعت باعث افزایش میزان حذف سرب از ۰ تا ٤٥ درصد شد. از طرف دیگر در زمان‌های ثابت، افزای شدمای انکوباسیون تا ۳۸ درجه سانتی گراد باعث افزایش میزان حذف سرب شد اما افزایش بیشتر دما تاثیری منفی داشت. به طور کلی بیشترین میزان حذف سرب (٤٥/۹۲ درصد) در دمای ۳٤/٦۱ درجه سانتی گراد و زمان ۲۳/٥ ساعت حاصل شد.

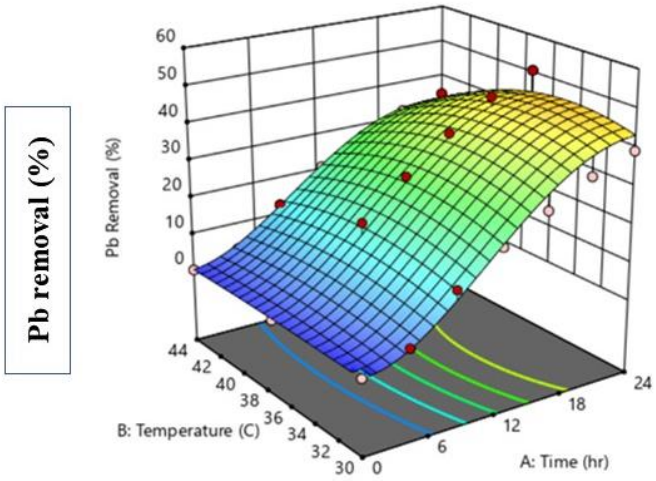


Figure 2- the effect of time and temperature on the Pb removal by *Lactobacillus paragasseri*

در شکل ۳ تاثیر زمان و دمای انکوباسیون با باکتری *Limosilatobacillus reuteri* بر میزان حذف سرب نشان داده شده است. با توجه به شکل در زمان‌های ثابت انکوباسیون، افزایش دما تا ۳۷/٦ درجه سانتی گراد باعث افزایش میزان حذف سرب شد اما افزایش بیشتر دما تاثیر منفی داشت. از طرف دیگر در دماهای ثابت انکوباسیون، افزایش زمان به‌طور معنی‌داری باعث افزایش میزان حذف سرب شد. بیشترین میزان حذف سرب (۵۱/۱ درصد) در زمان ۲۳/۹٥ ساعت و دمای ۳٤/٥۸ درجه سانتی گراد حاصل شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195]

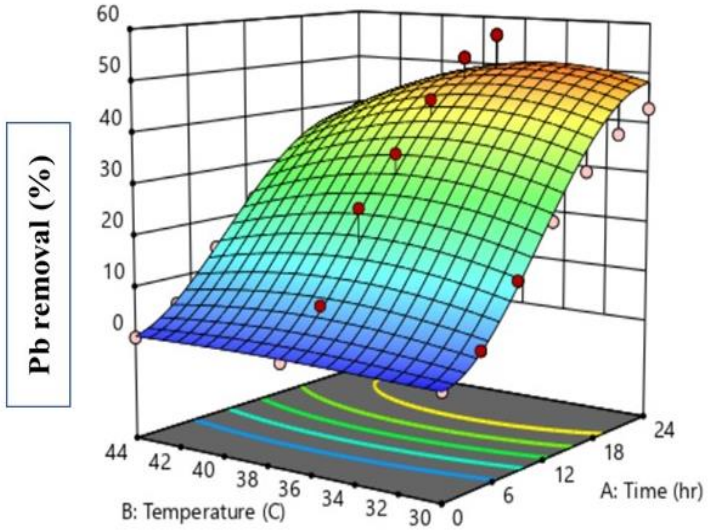


Figure 3- the effect of time and temperature on the Pb removal by *Limosilatobacillus reuteri*

۳-۳- میزان حذف کادمیوم

با توجه به جدول ۲ آنالیز سطح پاسخ نشان داد که اثر متغیرهای دما (A)، زمان (B)، نوع گونه باکتری (C)، A^2، B^2، C^2، AB و BC معنی‌دار و در این میان متغیرهای AB و C تاثیر معنی‌داری کمتری نسبت به سایر متغیرها از خود نشان دادند ($p<۰/۰۵$). تاثیر متغیر AC بر میزان حذف کادمیوم معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). ضریب رگرسیون معادله R^2=۰/۹۷ بود که حاکی از این امر است که مدل توانسته ۹۷ درصد از کل تغییرات در دامنه متغیرهای مورد بررسی مورد را پیش بینی کند و مدلی مناسب برای پیش بینی اثر متغیرهای فرآیند بر پاسخ مورد نظر (حذف کادمیوم) است. رابطه‌ی میزان حذف کادمیوم با پارامترهای واکنش از نوع درجه دوم می‌باشد که با توجه به نوع باکتری مورد استفاده از معادلات ٤-٦ تبعیت می‌کند.

معادله ٤

Cd removal by *Lactiplantibacillus paraplantarum* = $(-7.99+0.5\ B+ 0.54\ A-0.002\ AB-0.008\ B^2-0.008\ A^2)^2 - 0.06$

معادله ٥

Cd removal by *Lactobacillus paragasseri* = $(-11.5 + 0.53\ B + 0.63\ A - 0.0028\ AB - 0.008\ B^2 - 0.008\ A^2)^2 - 0.06$

معادله ٦

Cd removal by *Limosilatobacillus reuteri* = $(-11.84 + 0.51\ B + 0.65\ A - 0.0027\ AB - 0.008\ B^2 - 0.008\ A^2)^2 - 0.06$

Table 2- Analysis of variance for Cd removal

	Sum of squares	df	F-value	p-value
Model	228.32	11	155.54	< 0.0001
A-Time	200.02	1	1498.86	< 0.0001
B-Temperature	5.21	1	39.02	< 0.0001
C-Strain	1.79	2	6.72	0.0026
AB	1.01	1	7.57	0.0082
AC	0.79	2	2.96	0.0606
BC	4.76	2	17.85	< 0.0001
A^2	12.34	1	92.43	< 0.0001
B^2	2.40	1	17.97	< 0.0001

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195]

٤-۳- بررسی تاثیر زمان، دما، نوع باکتری بر میزان حذف کادمیوم

در شکل ٤ تاثیر همزمان دما و زمان انکوباسیون با باکتری *Lactiplantibacillus paraplantarum* بر میزان حذف کادمیوم نشان داده شده است. در زمان‌های کمتر از ٦ ساعت، افزایش دما تا ۳٤ درجه سانتی گراد باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد، اما افزایش بیشتر دما تاثیر منفی داشت. در زمان‌های بیشتر از ٦ ساعت، افزایش دما تا حدود ۳۷ درجه سانتی گراد باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد و افزایش بیشتر دما باعث کاهش درصد حذف کادمیوم توسط باکتری شد. از طرف دیگر در دماهای ثابت انکوباسیون، افزایش زمان به‌طور معنی داری باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد. بیشترین میزان حذف کادمیوم (۳٦/۵۱ درصد) در زمان ۲۳/۸۹ ساعت و دمای ۳۰/۱٤ درجه سانتی گراد حاصل شد.

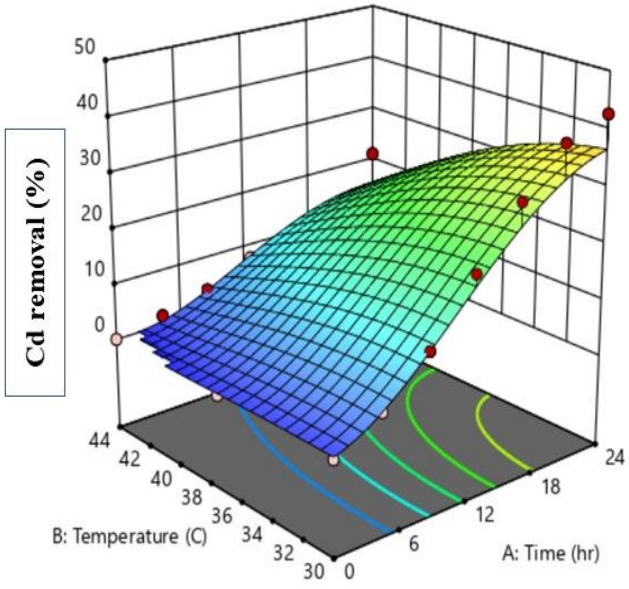


Figure 4- the effect of time and temperature on the Cd removal by *Lactiplantibacillus paraplantarum*

شکل ۵ تاثیر همزمان دما و زمان انکوباسیون با باکتری *Lactobacillus paragasseri* بر میزان حذف کادمیوم را نشان می‌دهد. در زمان‌های ثابت انکوباسیون، افزایش دما تا ۳۹ درجه سانتی گراد باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد، اما افزایش بیشتر دما تاثیر منفی داشت و از میزان حذف کادمیوم کاست. از سوی دیگر در دماهای ثابت انکوباسیون، افزایش زمان به‌طور معنی داری باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد. بیشترین میزان حذف کادمیوم (۳۹/٤۳ درصد) در زمان ۲۳/۷۱ ساعت و دمای ۳۳/۳٤ درجه سانتی گراد حاصل شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195]

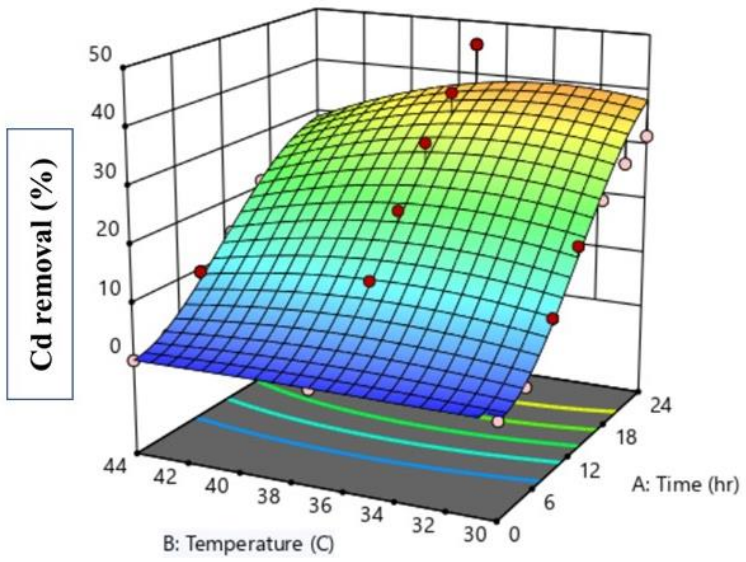


Figure 5- the effect of time and temperature on the Cd removal by *Lactobacillus paragasseri*

شکل ٦ تاثیر همزمان دما و زمان انکوباسیون با باکتری *Limosilatobacillus reuteri* بر میزان حذف کادمیوم را نشان می‌دهد. در زمان‌های ثابت انکوباسیون، افزایش دما تا حدود ٤٠ درجه سانتی گراد باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد، اما افزایش بیشتر دما تاثیر منفی از خود نشان داد و میزان حذف کادمیوم کاهش یافت. از طرف دیگر در دماهای ثابت انکوباسیون، افزایش زمان به‌طور معنی داری باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد. بیشترین میزان حذف کادمیوم (۳۵/۳۵ درصد) در زمان ۲۳/۷۷ ساعت و دمای ۳۵/٤٤ درجه سانتی گراد حاصل شد.

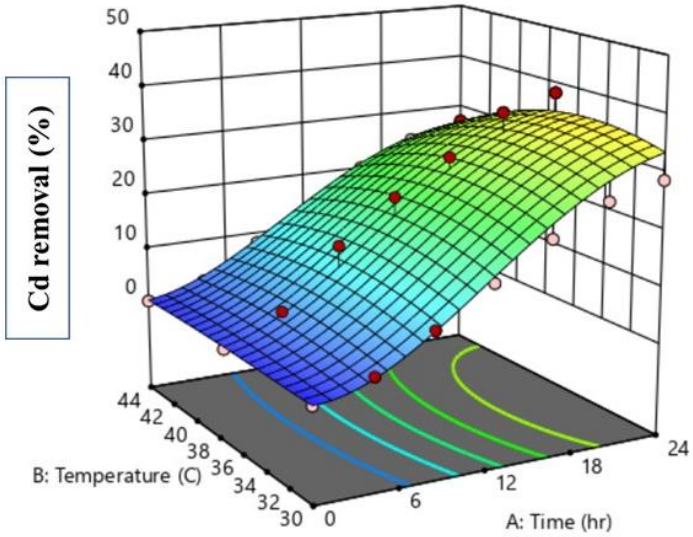


Figure 6- the effect of time and temperature on the Cd removal by *Limosilatobacillus reuteri*

به‌طور کلی در راستای حذف فلزات سنگین توسط میکروارگانیسم‌ها دو مکانیسم کلی بیان شده است: ۱)تجمع زیستی که نوعی فرآیند وابسته به متابولیسم است که در آن یون‌های فلزی به غشای پلاسما نفوذ کرده و در داخل سلول

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195]

تجمع می‌یابند و ۲)جذب زیستی که نوعی فرآیند مستقل از متابولیسم است که در آن یون‌های فلزی به سطح سلول متصل می‌شوند [۱۷]. در این راستا گزارش شده است که مکانیسم‌هایی مانند جذب، تبادل یونی، تشکیل کمپلکس و شلاته کردن می‌توانند در زمینه جذب بیولوژیکی فلزات نقش داشته باشند [۱۳].

همانطور که پیشتر بیان شد، در تمام باکتری‌های مورد ارزیابی، افزایش زمان انکوباسیون به‌طور معنی داری باعث افزایش میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم شد این امر می تواند به‌دلیل افزایش زمان تماس فلزات با میکروارگانیسم‌ها باشد که فرصت کافی جهت جذب و حذف فلزات را داشته‌اند. مشابه با این نتایج Elsanhoty و همکاران (۲۰۱٦) بیان کردند که افزایش زمان انکوباسیون از ۳۰ تا ۳۰۰ دقیقه به‌طور معنی داری باعث افزایش میزان حذف فلز کادمیوم توسط باکتری های *Lactobacillus acidophilus*، *Lactobacillus acidophilus*، *Lactobacillus rhamnosus*، *Streptococcus thermophiles*، Lactobacillus plantrium و *Bifidobacterium angulatum* شد [۱۸]. همچنین Bhakta و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که افزایش زمان انکوباسیون باعث افزایش میزان حذف فلز سرب از طریق جذب بر سطح میکروارگانیسم‌ها شد اما تاثیری بر میزان حذف کادمیوم نداشت [۱۹]. از سوی دیگر Teemu و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که زمان انکوباسیون تاثیر معنی‌داری بر میزان حذف فلز کادمیوم توسط میکروارگانیسم‌ها نداشت. این تفاوت در نتایج می‌تواند به‌دلیل تفاوت در غلظت فلزات موجود در محیط، گونه میکروارگانیسم مورد استفاده و شرایط انکوباسیون باشد [۲۰].

از طرف دیگر افزایش دمای انکوباسیون بیشتر از ٤۰ درجه سانتی گراد به طور معنی‌داری باعث کاهش میزان حذف فلزات سنگین شد. به‌طور کلی بیشترین میزان حذف فلزات در دمای ٤۰-۳٤ درجه سانتی گراد حاصل شد. این یافته می‌تواند به دلیل اثر تخریبی دما بر میکروارگانیسم‌های مورد ارزیابی باشد که افزایش دما باعث غیر فعال شدن و یا کاهش میزان فعالیت آنها شده است که در نتیجه از توانایی آنها در حذف فلزات موجود در محیط کاسته است. Cho و Kim (۲۰۰۳) گزارش کردند که افزایش دما باعث افزایش حذف فلز کادمیوم توسط شد [۲۱]. به‌طور کلی در این راستا گزارش شده است که میزان حذف فلزات سنگین توسط میکروارگانیسم‌ها به عوامل مختلفی از جمله دما و زمان انکوباسیون، pH و غلظت فلزات بستگی دارد [۲۲].

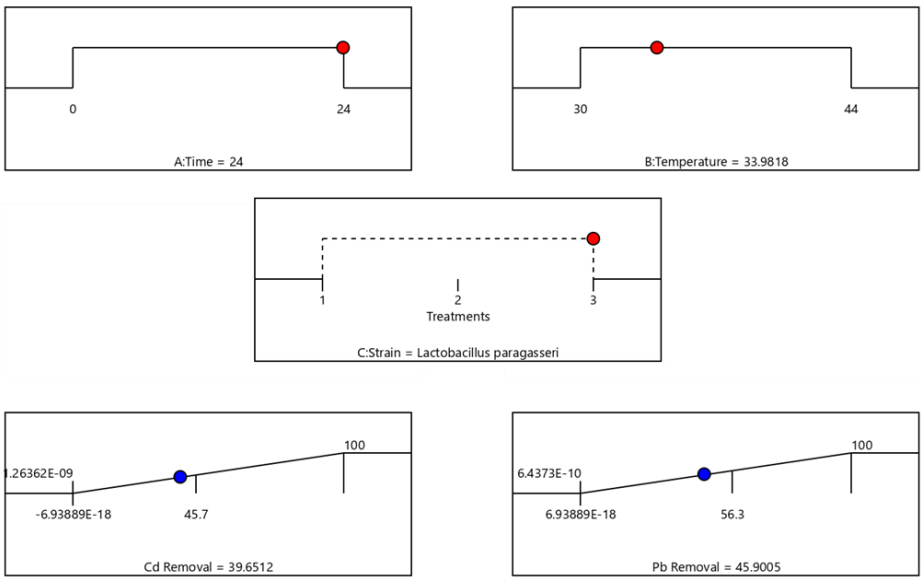
از طرف دیگر مقایسه میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم نشان داد که به طور کلی میکروارگانیسم‌های مورد ارزیابی توانایی بیشتری در حذف فلز سرب نسبت به کادمیوم داشته‌اند به‌عبارت دیگر میزان حذف فلز سرب توسط میکروارگانیسم‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر از فلز کادمیوم بود. این امر را می‌توان به دلیل اندازه یونی بزرگ‌تر و وزن اتمی سنگین تر سرب نسبت به کادمیوم نسبت داد که باعث برهمکنش بیشتر آن با اجزای بیولوژیکی (میکروارگانیسم‌ها) می‌گردد [۲۳].

٤- بهینه سازی و ارزیابی اعتبار مدل

پس از آنالیز داده‌ها همانطور که در شکل ۷ نشان داده شده است، نرم افزار شرایط بهینه جهت دستیابی به بیشترین میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم به‌ترتیب به میزان ٤۵/۹ و ۳۹/٦۵ درصد را زمان انکوباسیون ۲٤ ساعت و دمای ۳۳/۹۸ درجه سانتی گراد با استفاده از باکتری *Lactobacillus paragasseri* تعیین کرد. به‌منظور ارزیابی اعتبار مدل، در شرایط ذکر شده میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم به‌ترتیب ٤۷/۱ و ۳۸/٥٤ درصد بود. این نتایج بیانگر توانایی مناسب مدل در پیش بینی اثر متغیرهای دما، زمان و نوع باکتری بر پاسخ‌های مورد بررسی (میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم) می‌باشد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195]



شکل ۷- شرایط بهینه جهت دستیابی به حداکثر حذف فلزات سرب و کادمیوم

۵-نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که باکتری‌های *Lactiplantibacillus paraplantarum*، *Lactobacillus paragasseri* و *Limosilatobacillus reuteri* از توانایی قابل توجهی در حذف فلزات سرب و کادمیوم برخوردارند. استفاده از روش سطح پاسخ به‌عنوان تکنیکی مناسب جهت بهینه‌سازی فرآیندهای چند متغیری نشان داد که در میان باکتری های مورد ارزیابی باکتری *Lactobacillus paragasseri* در دمای ۳۳/۹۸ درجه سانتی گراد و زمان ۲٤ ساعت قادر به حذف فلزات سنگین سرب و کادمیوم به‌ترتیب به میزان ٤٥/۹ و ۳۹/٦٥ درصد بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از میکروارگانیسم *Lactobacillus paragasseri* تکنیکی ارزان و سازگار با محیط است که به طور قابل توجهی قادر به حذف فلزات سنگین می‌باشد. بنابراین می‌توان از آن به‌عنوان روشی با بازدهی بالا جهت حذف فلزات سنگین از پساب‌های صنعتی استفاده نمود.

٦-منابع

[1]Bhat, S. A., Hassan, T., & Majid, S. (2019). Heavy metal toxicity and their harmful effects on living organisms–a review. *International Journal of Medical Science And Diagnosis Research*, *3*(1), 106-122.

[2]Flora, S. J. S. (2009). Metal poisoning: threat and management. *Al Ameen J Med Sci*, *2*(2), 4-26.

[3]Lentini, P., Zanoli, L., Granata, A., Signorelli, S. S., Castellino, P., & Dellaquila, R. (2017). Kidney and heavy metals-The role of environmental exposure. *Molecular medicine reports*, *15*(5), 3413-3419.

[4]Paknikar, K. M., Pethkar, A. V., & Puranik, P. R. (2003). Bioremediation of metalliferous wastes and products using inactivated microbial biomass.

[5]Syed, S., & Chinthala, P. (2015). Heavy metal detoxification by different Bacillus species isolated from solar salterns. *Scientifica*, *2015*(1), 319760.

[6]*R. H. S. F. Vieira and B. Volesky, "Biosorption: a solution to pollution?"* International Microbiology, *vol. 3, no. 1, pp. 17–24, 2000.*

[7]Yin, K., Wang, Q., Lv, M., & Chen, L. (2019). Microorganism remediation strategies towards heavy metals. *Chemical Engineering Journal*, *360*, 1553-1563.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195]

[8]Chen, R., Tu, H., & Chen, T. (2022). Potential application of living microorganisms in the detoxification of heavy metals. *Foods*, *11*(13), 1905.

[9]Monachese, M., Burton, J. P., & Reid, G. (2012). Bioremediation and tolerance of humans to heavy metals through microbial processes: a potential role for probiotics?. *Applied and environmental microbiology*, *78*(18), 6397-6404.

[10]Halttunen, T., Salminen, S., & Tahvonen, R. (2007). Rapid removal of lead and cadmium from water by specific lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, *114*(1), 30-35.

[11]Massoud, R., Hadiani, M. R., Hamzehlou, P., & Khosravi-Darani, K. (2019). Bioremediation of heavy metals in food industry: Application of Saccharomyces cerevisiae. *Electronic Journal of Biotechnology*, *37*, 56-60.

[12]Ahmed, S., Islam, M. R., Ferdousi, J., & Iqbal, T. S. (2017). Probiotic Lactobacillus sp. with bioremediation potential of toxic heavy metals. *Bangladesh J. Microbiol*, *34*(1), 43-6.

[13]Kirillova, A. V., Danilushkina, A. A., Irisov, D. S., Bruslik, N. L., Fakhrullin, R. F., Zakharov, Y. A., ... & Yarullina, D. R. (2017). Assessment of resistance and bioremediation ability of Lactobacillus strains to lead and cadmium. *International journal of microbiology*, *2017*(1), 9869145.

[14]Ibrahim, F., Halttunen, T., Tahvonen, R., & Salminen, S. (2006). Probiotic bacteria as potential detoxification tools: assessing their heavy metal binding isotherms. *Canadian journal of microbiology*, *52*(9), 877-885.

[15]Kaveh, S., Sadeghi, M. A., Ghorbani, M., Jafari, S. M., Sarabandi, K. (2020). Antioxidant properties of fenugreek bioactive peptides prepared with pancreatin enzyme. *Food Engineering Research*, 18(2), 103-122.

[16]Hashemi, S. M. B., Kaveh, S., & Abedi, E. (2023). Microscopic monitoring of the antibacterial potential of Nepeta elymaitica Bornm essential oil against kohlrabi leaves' foodborne pathogens. *Lwt*, *188*, 115403.

[17]Mrvčić, J., Stanzer, D., Šolić, E., & Stehlik-Tomas, V. (2012). Interaction of lactic acid bacteria with metal ions: opportunities for improving food safety and quality. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *28*(9), 2771-2782.

[18]Elsanhoty, R. M., Al-Turki, I. A., & Ramadan, M. F. (2016). Application of lactic acid bacteria in removing heavy metals and aflatoxin B1 from contaminated water. *Water Science and technology*, *74*(3), 625-638.

[19]Bhakta, J. N., Ohnishi, K., Munekage, Y., Iwasaki, K., & Wei, M. Q. (2012). Characterization of lactic acid bacteria-based probiotics as potential heavy metal sorbents. *Journal of applied microbiology*, *112*(6), 1193-1206.

[20] Teemu, H., Seppo, S., Jussi, M., Raija, T., & Kalle, L. (2008). Reversible surface binding of cadmium and lead by lactic acid and bifidobacteria. *International journal of food microbiology*, *125*(2), 170-175.

[21] Cho, D. H., & Kim, E. Y. (2003). Characterization of Pb 2+ biosorption from aqueous solution by Rhodotorula glutinis. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, *25*, 271-277.

[22]Mrvčić, J., Prebeg, T., Barišić, L., Stanzer, D., Bačun-Družina, V., & Stehlik-Tomas, V. (2009). Zinc Binding by Lactic Acid Bacteria. *Food Technology & Biotechnology*, *47*(4).

[23]Lu, W. B., Kao, W. C., Shi, J. J., & Chang, J. S. (2008). Exploring multi-metal biosorption by indigenous metal-hyperresistant Enterobacter sp. J1 using experimental design methodologies. *Journal of hazardous materials*, *153*(1-2), 372-381.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Detoxification of heavy metals by probiotic bacteria: investigating the effect of temperature, time, and type of bacteria on the removal of lead and cadmium metals using the response surface methodology

Seyed Mohammad Bagher Hashemi[1]*, Shima Kaveh[2], Ali poorkarimi[3]

1 -Associate professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Fasa University, Fasa, Iran

2- Ph.D of food chemistry, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran

3- Assistant professor, Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering, Fasa University, Fasa, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received:2024/8/20

Accepted:2024/9/11

Keywords:

lactic acid bacteria,

lead,

biosorption,

heavy metals,

cadmium.

DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195.

*Corresponding Author E-

hasshemii@gmail.com

ABSTRACT

Pollution in industrial areas due to the release of heavy metals is one of the important environmental concerns. Heavy metals can have very adverse effects on human and animal health. In this regard, food products contaminated with heavy metals, even in low concentrations, can have harmful effects on human health. In this regard, the use of microorganisms is known as a new and low-cost method for the biological removal of metals. The purpose of this study was to investigate the effect of the type of microorganism (*Lactiplantibacillus paraplantarum, Lactobacillus paragasseri,* and *Limosilatobacillus reuteri*), temperature, and incubation time on the removal of lead and cadmium metals using the response surface methodology. The results showed that the removal rate of lead metal using microorganisms was significantly higher than that of cadmium. Increasing the time from 0 to 24 hours significantly increased the amount of metal removal. On the other side, increasing the temperature up to about 38 °C positively affected the removal of metals, but increasing the temperature further reduced the ability of microorganisms to remove metals. In general, the software determined the optimal conditions to achieve the maximum removal of lead and cadmium metals by 45.9% and 39.65%, respectively, at 24 hours incubation time and 33.98 °C temperature using *Lactobacillus paragasseri* bacteria. Therefore, according to the results of this research, the use of microorganisms such as *Lactobacillus paragasseri* is a useful solution for removing heavy metals from various sources, such as industrial wastewater.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195]