JSST Journal of Space Science and Technology

VOL. 17 / ISSUE 1/ SPRING 2024 (NO. 60)
Print ISSN: 2008-4560 / Online ISSN: 2423-4516
DOI: 10.22034/JSST.2024.1452

OPEN ACCESS

Pages: 63-71/ Research Paper / Submit: 04 July 2023 / Accepted: 25 September 2023

Availablein: http://jsst.ias.ir

Cadmium Bioremoval from Water by Probiotics in Simulated Microgravity and Mars Gravity

Maryam Salavatifar

Assistant Professor, Aerospace Research Institute of Iran Ministry of Science, Technology and Research, Tehran, Iran

Corresponding Author E-mail: salavati@ari.ac.ir

Abstract:

Earth's gravity changes can affect organisms' behavior and performance. The study of such effects can lead to the discovery of new practical methods. Heavy metal toxicity poses a lot of risks to human health. Cadmium, one of the most hazardous heavy metals, cause defects in genome repair following the induction of oxidative stress and DNA damage and may lead to cancer. Bioremoval by probiotics is one of these safe methods to remove heavy metals from drinking water. This study measured the Lactobacillus acidophilus effect on cadmium bioremoval in microgravity and Mars gravity conditions. The results demonstrated that the 24-hour water treatment by L. acidophilus removed 43.77% of the cadmium concentration in the Earth's gravity, 54.74% under microgravity, and 54.84% in Mars's gravity. Statistical analysis showed that L. acidophilus was effective in cadmium bioremoval, and this ability was maintained even with gravity changes. Therefore, this bacterium can be used to remove heavy metal pollution during space missions to maintain astronauts' health.

Keywords: Cadmium, Lactobacillus acidophilus, Probiotic, microgravity, Mars gravity.

1. Introduction

Cadmium is one of the heavy metals that, if it enters the human body, may cause lung damage, kidney function, bone damage, and even cancer. Various strategies have been introduced to remove heavy metals from water. For example, surface adsorption, membrane filtration, ion exchange, chemical precipitation, and nanotechnology treatments are some of these methods. Several studies have been conducted on the bioremediation of heavy metals by probiotics, which is a cheap, safe, and useful method. *Lactobacillus acidophilus* is one of these promising probiotics. Different Lactobacillus strains reduce the bioavailability of metals by their binding. The main strategy of bioremediation of heavy metals by probiotics is the ion exchange of peptidoglycan or teichoic acid of their cell wall to ligand [1].

Microorganisms, like other organisms, are affected by gravity. It has been proven that the physiology, morphology, and even pathogenic power of microorganisms have been changed in weightlessness. These changes can result from alteration of surface layer thickness and the cumulative properties of microorganisms. Several researches have proven that reducing or eliminating gravity (weightlessness) has affected the microorganism's characteristics [2]. To the best of our knowledge, there are limited studies on gravity changes' effect on the bioremediation of heavy metals by Lactobacillus bacteria. Therefore, in this study, the *L. acidophilus* potency in the cadmium bioremediation was investigated under microgravity as well as Mars gravity.

2. Material and methods

In order to main biomass preparation, the *L. acidophilus* ATCC 4356 was cultured in MRS liquid medium for 24 hours at 37°C. To prepare daily fresh seed culture, 5 ml of the original culture was added to 50 ml of liquid MRS and kept for 24 hours at 37°C and 75 rpm rotation. To bioremoval test, the appropriate volume of cadmium element with a final concentration of 52.5 µg/liter was prepared in deionized water [3]. Then, 2×10^{10} CFU/ml of bacterial biomass was added to the cadmium solution and placed under microgravity. Also, similar samples were placed on a clinostat under Mars gravity conditions. Each

COPYRIGHTS

© 2024 by the authors. Published by Aerospace Research Institute. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0)

How to cite this article:
M. Salavatifar." Cadmium Bioremoval from Water by Probiotics in Simulated Microgravity and Mars Gravity," *Journal of Space Science and Technology*, vol. 17, no. 1, pp. 63-71, 2024 (in Persian).

treatment was for 24 hours, at 37°C, and the rotation speed of the clinostat was 15 rpm [4]. The control samples were in similar conditions but under Earth's gravity.

At the end of the treatment, the tubes were centrifuged, and the remaining amount of cadmium in the supernatant was determined by the ICP-MASS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectromrtry) device. Data analysis was done with GraphPad Prism software. To compare data in different treatments, a one-way ANOVA test was used. A *p-value* smaller than 0.05 was considered significant. All tests were repeated three times.

3. Results and discussions

Microorganisms are capable of in heavy metals bioremediation due to their ability to absorb and stabilize metal ions. Considering the changes in the surface structures of some bacteria in reduced gravity conditions of outer space and also fluctuations in the absorption power of heavy metals due to such changes [5], in this study, the comparison of the L. acidophilus cadmium absorption from water in Mars gravity and microgravity conditions were studied.

Figure 1 shows that after 24 hours of contact with the aqueous solution, the bacteria absorbed 54.84% of the metal in Mars gravity conditions, 54.74% in microgravity conditions, and 43.77% in 1g. Statistical analysis showed that L. acidophilus could absorb cadmium with about 50% success. In addition, changes in gravity did not significantly affect the bioremediation rate of this bacterium because statistical analysis with a One-way ANOVA test showed insignificant differences between different gravity conditions (p-value> 0.05).

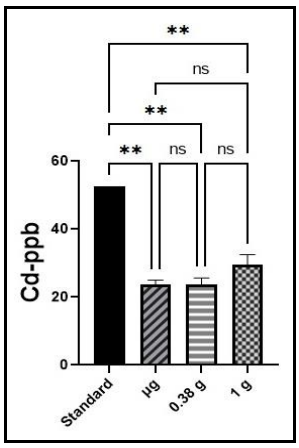


Figure 1. The concentration of cadmium after 24h exposure of liquid phases with L. acidophilus in variable gravity conditions

(indicate *p*- value< 0.01, ns: non-significant).**

The results of this study were in line with Afsharian's 2022 [4], although the cadmium removal values in 1 g of that study were lower. This difference may be due to metal concentration optimization.

Due to the negative charge of the Lactobacillus cell wall compounds, these bacteria can bind to positively charged metal ions and remove them from the environment [6]. Their biosorption power has a direct relationship with increasing the thickness of the cell wall, and any treatment that can increase the thickness of the wall will improve the bioremediation power of these bacteria. Changes in gravity provide conditions that, due to changes in shear stress force, changes may occur in the morphology, physiology, production of secondary metabolites, pathogenicity, resistance to environmental stress, and genetics of cells [6,7]. This study was designed to consider the changes of extracellular polymers of some bacteria in microgravity conditions compared to the natural gravity of the Earth [5]. The results indicated no difference in the bioremediation rate of cadmium metal in both microgravity and Mars gravity, compared to the natural gravity of the Earth's surface. In fact, L. acidophilus bacteria could absorb and remove cadmium metal from water with the same strength as in terrestrial conditions.

4. Conclusions

Probiotics can be used to absorb heavy metals from water and food. L. acidophilus bacteria surface layers bind to positively charged heavy metals such as cadmium and separate them from the solution. The results showed that bacteria retained this ability even with gravity changes and succeeded in cadmium bioremediation. The results of this research can use to remove heavy metal pollution during space missions.

5. References

[1] M. R. Hadiani, K. Khosravi-Darani, N. Rahimifard, and H. Younesi, "Assessment of mercury biosorption by Saccharomyces cerevisiae: response surface methodology for optimization of low Hg (II) concentrations," *Journal of environmental chemical engineering*, vol. 6, no. 4, pp. 4980-4987, 2018, doi: https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.07.034

[2] M.R. Benoit and et al., "Microbial antibiotic production aboard the International Space Station," *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 70, pp. 403-411, 2006, doi: https://doi.org/10.1007/s00253-005-0098-3

[3] M. R. Hadiani, K. K. Darani, N. Rahimifard, and H. Younesi, "Biosorption of low concentration levels of Lead (II) and Cadmium (II) from aqueous solution by Saccharomyces cerevisiae: Response surface methodology," *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, vol. 15, pp. 25-34, 2018, https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.05.001.

[4] Z. Afsharian, M. Salavatifar, and K. Khosravi_Darani, "Impact of simulated microgravity on bioremoval of heavy-metals by Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 from water," *Heliyon*, vol. 8, no. 12, 2022, doi: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12307.

[5] L. Mauclaire and M. Egli, "Effect of simulated microgravity on growth and production of exopolymeric substances of Micrococcus luteus space and earth isolates," *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, vol. 59, no. 3, pp. 350-356, 2010, doi: https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00683.x

[6] S. Xing , and et al., "Lead biosorption of probiotic bacteria: effects of the intestinal content from laying hens," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 24, pp. 13528-13535, 2017, doi: https://doi.org/10.1007/s11356-017-8896-6.

[7] G. Senatore, F. Mastroleo, N. Leys, and G. Mauriello, "Effect of microgravity & space radiation on microbes," *Future microbiology*, vol. 13, no. 07, pp. 831-847, 2018, doi: https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0251

JSST
فصلنامهٔ علمی - پژوهشی علوم و فناوری فضایی

دوره ۱۷/ شماره ۱/ بهار ۱۴۰۳ / (پیاپی ۶۰)
شاپای چاپی: ۴۵۶۰- ۲۰۰۸ / شاپای الکترونیکی: ۴۵۱۶-۲۴۲۳
DOI: 10.22034/JSST.2024.1458
ص. ص. ۷۱-۶۳/ مقاله پژوهشی / دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۳۱ / پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۷/۰۳
Availablein: http://jsst.ias.ir

حذف زیستی کادمیوم از آب توسط پروبیوتیک‌ها در جاذبه مریخ و میکروگراویتی شبیه‌سازی شده

مریم صلواتی‌فر

پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

ایمیل نویسنده مخاطب: salavati@ari.ac.ir

گرانش زمین یکی از نیروهایی است که به‌طور مداوم بر ساختار و عملکرد موجودات زنده تأثیر می‌گذارد. مطالعه تغییرات این نیرو می‌تواند منجر به کشف روش‌های کاربردی نوین شود. فلزات سنگین خطرات زیادی برای سلامت انسان دارند. آن‌ها به‌عنوان شبه عنصر عمل نموده و حتی ممکن است در فرآیندهای متابولیک اختلال ایجاد کنند. کادمیوم به‌عنوان یکی از خطرناک‌ترین فلزات، به دنبال القای استرس اکسیداتیو، باعث ایجاد نقص در ترمیم DNA، آسیب به DNA و گاهی منجر به سرطان می‌شود. روش‌های مختلفی برای حذف فلزات سنگین از آب آشامیدنی معرفی شده است. حذف زیستی توسط پروبیوتیک‌ها یکی از این روش‌های بی‌خطر می‌باشد. در این مطالعه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به مدت ۲۴ ساعت در معرض محلول آبی حاوی فلز کادمیوم در شرایط میکروگراویتی و گرانش مریخ قرار گرفت و سپس، باقیمانده فلز اندازه‌گیری شد. نتایج نشان دادند که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس قادر به حذف ۴۳/۷۷٪ از غلظت کادمیوم در گرانش زمین، ۵۴/۷۴٪ تحت میکروگراویتی و ۵۴/۸۴٪ در گرانش مریخ شد. آنالیز آماری نشان داد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در حذف زیستی کادمیوم مؤثر بوده و حتی با تغییرات جاذبه نیز این قابلیت حفظ گردید. بنابراین می‌توان از این باکتری در رفع آلودگی فلزات سنگین در زمان ماموریت‌های فضایی به منظور حفظ سلامت فضانوردان بهره جست.

واژه‌های کلیدی: کادمیوم، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، پروبیوتیک، میکروگراویتی، جاذبه مریخ.

علائم و اختصارات

دئوکسی ریبونوکلئیک اسید	DNA
پتانسیل هیدروژن	pH
طیف‌سنجی جرمی پلاسمای جفت‌شده القایی	ICP-MASS
یک واحد تشکیل کلنی	CFU
میلی‌لیتر	ml
مقدار احتمال	*p*-value
جاذبه زمین	g

مقدمه

جاذبه، نیرویی است که به‌صورت دائمی بر موجودات زنده ساکن بر روی کره زمین اعمال می‌شود و همه جانداران تحت تاثیر این نیرو، تشکیل، رشد و تکامل یافته‌اند. میکروارگانیسم‌ها نیز مانند سایر موجودات زنده، تحت تأثیر جاذبه قرار دارند. تحقیقات کمی در مورد فیزیولوژی،

استادیار

COPYRIGHTS
© 2024 by the authors. Published by Aerospace Research Institute. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0)

مورفولوژی و حتی تغییرات قدرت بیماری‌زایی میکروارگانیسم‌ها در شرایط بی‌وزنی موجود است. این تغییرات می‌تواند منتج از تغییر در ضخامت لایه سطحی و خواص تجمعی میکروارگانیسم‌ها باشد [۱]. هر گونه تغییر در نیروی جاذبه، منجر به برهم خوردن ترکیب میکروبیوم و هم‌چنین سرعت رشد، تولید متابولیت‌های ثانویه، بیماری‌زایی، بیان ژن، تشکیل بیوفیلم و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها خواهد گردید [۲]. اما به وضوح مشخص نشده است که این تغییرات گرانشی تأثیر مثبت یا منفی بر سلامت انسان دارد. تحقیقات متعددی ثابت کرده‌اند که کاهش یا حذف گرانش (بی وزنی) بر ویژگی‌های میکروارگانیسم‌ها تأثیر داشته و بنابراین می‌تواند منجر به تغییراتی در هوموستاز و سلامت بدن شود [۳].

فلزات سنگین بخشی از عناصر جزیی طبیعت هستند که چگالی، جرم اتمی یا عدد اتمی بالایی داشته اما با ورود به اکوسیستم زنده می‌توانند سمی شوند. جیوه، سرب، کادمیوم و آرسنیک رایج‌ترین فلزات سنگینی هستند که باعث آلودگی محیط زیست می‌گردند. تولیدات صنعتی (ریخته‌گری، ذوب، پالایشگاه‌های نفت، پتروشیمی‌ها، آفت‌کش‌ها، صنایع شیمیایی)، استخراج معادن، پساب‌های تصفیه‌نشده صنایع، لوله‌های فلزی و محصولات فرعی احتراق نیروگاه‌های زغال‌سوز از عمده‌ترین منابع انتشار این فلزات می‌باشند. بخشی از فلزات سنگین توسط گیاهان جذب شده و هم‌چنین در خاک تثبیت می‌شود. از این رو قرار گرفتن انسان در معرض آن‌ها از طریق غذا و آب آشامیدنی است [۴, ۵]. مطالعات حاکی از ایجاد برخی از انواع سرطان‌ها در مواجهه مزمن با این‌گونه فلزات به دلیل تغییرات نابه‌جا در ژنوم و بیان ژن به‌عنوان یک فرآیند اساسی می‌باشد. فلزات سرطان‌زا مانند آرسنیک، کادمیوم و کروم می‌توانند سنتز و ترمیم DNA را مختل کنند [۶, ۷].

کادمیوم از جمله فلزات سنگینی به‌شمار می‌آید که در صورت جذب، تا دهه‌ها و حتی سال‌ها در بدن موجودات زنده هم‌چون انسان باقی می‌ماند. اگر انسان در مواجهه طولانی مدت با کادمیوم قرار بگیرد دچار مشکلات کلیوی خواهد شد. به علاوه سبب بروز مشکلات در ریه و سرطان و بروز نقص‌های استخوان خواهد گردید. علاوه بر این، افزایش فشار خون و بروز مشکلات قلبی را نیز می‌توان از جمله تاثیرات کادمیوم بر سلامت انسان برشمرد [۸]. این فلز به‌طور طبیعی در خاک و مواد معدنی مانند نمک‌های کربنات، کلرید، سولفید، سولفات و هیدروکسید و هم‌چنین در آب وجود دارد. سطوح بالای کادمیوم در هوا، آب و خاک می‌تواند به دنبال فعالیت‌های صنعتی رخ دهد که انسان می‌تواند به میزان قابل توجهی در معرض آن قرار گیرد. علاوه بر این، مصرف مواد غذایی آلوده منجر به ورود کادمیوم به بدن می‌شود. قرار گرفتن در معرض کادمیوم ممکن است از طریق سیگار کشیدن نیز رخ دهد، که می تواند غلظت کادمیوم در خون و ادرار را افزایش دهد. غلظت کادمیوم خون در افراد سیگاری تقریباً دو برابر بیشتر از افراد غیرسیگاری در جمعیت بزرگسال است. به‌نظر می‌رسد که این عارضه به تجمع غلظت بالای کادمیوم در بافت‌های تنباکو به ویژه در برگ‌ها مربوط باشد [۹]. وجود کادمیوم در آب آلوده می‌تواند مکانیسم‌های لازم در بدن را مختل کرده و احتمالاً منجر به اختلالات کوتاه مدت یا طولانی مدت شود [۱۰]. علی‌رغم جذب اندک دستگاه گوارش، کادمیوم به‌طور چشم‌گیری از طریق گرد و غبار صنعتی وارد ریه‌ها می‌شود. استنشاق حاد یا مزمن کادمیوم در مناطق صنعتی ممکن است منجر به آسیب‌های ریوی و اختلال عملکرد کلیه‌ها شود. مطالعات حیوانی و انسانی موارد فوق را تایید می‌کند [۱۱].

استراتژی‌های مختلفی برای حذف فلزات سنگین از آب معرفی شده است. به‌عنوان مثال، جذب سطحی، فیلتراسیون غشایی، تبادل یونی، رسوب شیمیایی و تیمارهای نانوتکنولوژی برخی از این روش‌ها هستند [۱۲]. مطالعاتی چند بر زیست پالایی فلزات سنگین سموم و آفت کش‌ها توسط پروبیوتیک‌ها متمرکز شده‌اند. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده مفیدی هستند که در بدن زندگی نموده و می‌توانند فوایدی بر سلامت مانند درمان عفونت ادراری، اسهال و عدم تحمل لاکتوز در میزبان داشته باشند [۱۳]. گزارش‌های بسیاری حاکی از زیست پالایی فلزات سنگین توسط پروبیوتیک‌ها هستند [۱۴]. استفاده از پروبیوتیک‌ها برای تصفیه زیستی فلزات سنگین روشی ارزان، ایمن و اغلب مفید است [۱۵]. باکتری‌های خانواده لاکتوباسیلوس که اکثراً به‌عنوان "پروبیوتیک" معرفی می‌شوند می‌توانند با اتصال سطحی به فلزات، دسترسی زیستی آن‌ها را کاهش دهند [۱۶]. یکی از این باکتری‌های پروبیوتیک، *Lactobacillus acidophilus* است که در محصولات غذایی رایج است. سویه‌های مختلف لاکتوباسیلوس برای پتانسیل زیست پالایی فلزات سنگین مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند [۱۳]. استراتژی اصلی زیست پالایی فلزات سنگین توسط سلول‌های باکتریایی، تبادل یونی پپتیدوگلیکان و یا اسیدتیکوئیک دیواره سلولی با لیگاندها است [۱۷]. دیواره سلولی لاکتوباسیل‌ها، دارای محتوای زیادی از اسیدهای تیکوئیک و پپتیدوگلیکان هستند به‌طوری‌که ظرفیت بالایی برای تصفیه زیستی فلزات سنگین دارند [۱۸]. زیست پالایی فلزات سنگین به موارد مختلفی مانند غلظت فلز سنگین، غلظت زیست توده، pH و دما بستگی دارد. علاوه بر این، پیش تیمار سلول‌های باکتریایی ممکن است ظرفیت جذب فلز را افزایش دهد [۱۹].

بر اساس دانش ما، مطالعات محدودی در مورد تأثیر تغییرات جاذبه بر زیست پالایی فلزات سنگین توسط باکتری لاکتوباسیلوس

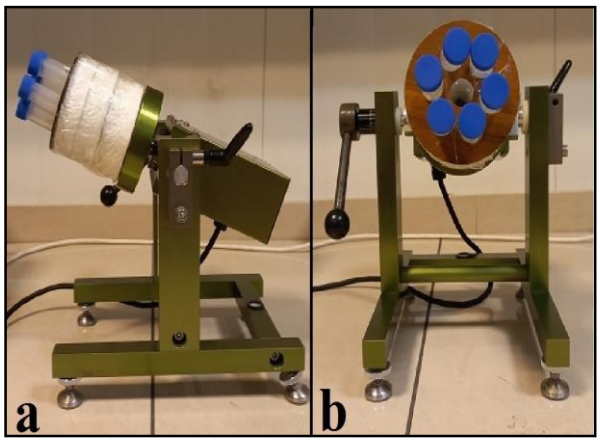
وجود دارد. بنابراین، در این مطالعه قدرت *L. Acidophilus* در زیست پالایی کادمیوم در شرایط جاذبه مریخ و هم‌چنین بی‌وزنی مورد سنجش و ارزیابی قرار گرفت و با شرایط جاذبه زمین مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها

باکتری *L. acidophilus* ATCC 4356 از مجموعه میکروبی تک ژن زیست خریداری گردید و جهت تهیه زیست توده اصلی، در محیط کشت مایع MRS (Man-Rogosa-Sharpe) (مرک، آلمان) ، با pH= ۶/۲±۰/۲ در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد. کشت باکتری تازه برای هر بار انجام جذب زیستی، از کشت اصلی تهیه شد. برای تهیه کشت تازه و فعال روزانه، ۵ میلی لیتر از کشت اصلی به ۵۰ میلی‌لیتر MRS مایع اضافه و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و چرخش ۷۵ دور در دقیقه نگهداری گردید. برای شمارش تعداد باکتری وارد شده جهت زیست پالایی از روش رقت سریالی استفاده شد [۲۰].

به‌منظور برطرف کردن آلودگی‌های فلزی احتمالی جهت انجام آزمایشات جذب زیستی، ابتدا کلیه ظروف شیشه‌ای به مدت ۲۴ ساعت در اسید نیتریک ۱۵ درصد غوطه‌ور گشته و سپس با آب دیونیزه شست‌وشو و خشک شدند. به علاوه تمامی ابزار فلزی و ظروف شیشه‌ای با فویل پوشانده شده و درون فور با دمای ۱۸۰ درجه به مدت ۳ ساعت سترون گردیدند. محلول‌ها و محیط‌های کشت نیز با حرارت مرطوب در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت زمان ۲۰ دقیقه در فشار ۱/۴ اتمسفر اتوکلاو شدند.

آزمایشات جذب زیستی به این‌صورت انجام شد که ابتدا در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری حجم مورد نیاز عنصر کادمیوم با غلظت نهایی ۵۲/۵ میکروگرم بر لیتر (ppb) در آب دیونیزه آماده گردید. انتخاب غلظت بر اساس بهینه‌سازی انجام پذیرفته در مطالعات پیشین بود [۱۷, ۲۱]. تنظیم pH توسط سود و اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال بر روی عدد ۴ انجام شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از محلول حاوی کشت بذر تازه برای هر نمونه، به درون فالکون منتقل گشته و به مدت ۱۰ دقیقه با دور g ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد و محیط کشت خالی گشته به نحوی که ۱ میلی‌لیتر در انتهای فالکون باقی ماند. سپس ۹ میلی‌لیتر از محلول کادمیوم آماده شده، به رسوب اضافه شد به نحوی که میزان زیست توده در محلول نهایی CFU/ml $۲×۱۰^{۱۰}$ گردید. لوله‌ها هواگیری و عاری از حباب گشتند و در شرایط میکروگراویتی (۰ g) بر روی دستگاه کلینواستت (UN00SA, USA) مستقر گردیدند. هم‌چنین نمونه‌هایی مشابه آماده شدند و در شرایط شبیه‌سازی شده جاذبه مریخ (۰/۳۸ g) بر روی کلینواستت قرار گرفتند. دمای انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و سرعت چرخش دستگاه کلینواستت، ۱۵ دور در دقیقه تنظیم گردید [۱۹, ۲۲]. نمونه‌های کنترل درون انکوباتور در شرایط مشابه اما بر روی زمین (۱ g) قرار داشتند. آزمون جذب زیستی به مدت ۲۴ ساعت ادامه یافت. شکل شماره ۱، نحوه قرارگیری نمونه‌ها بر روی دستگاه کلینواستت برای شبیه‌سازی جاذبه‌های کاهش یافته را نشان می‌دهد.



شکل ۱- نمونه‌ها بر روی دستگاه کلینواستت. a) شبیه‌سازی جاذبه مریخ، b) شبیه‌سازی میکروگراویتی.

در پایان مدت زمان زیست پالایی، لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با شتاب ۴۰۰۰g سانتریفیوژ شدند. محلول‌های رویی با دقت برداشته و مقدار باقیمانده فلز کادمیوم توسط دستگاه ICP-MASS (Spectromrtry Inductively Coupled Plasma Mass) (Perkin Elmer ELAN 6100 DRC-e) سنجش و تعیین گردید. پس از تعیین غلظت باقیمانده فلز و کسر نمودن آن از مقدار غلظت اولیه، میزان جذب محاسبه شد. رسم نمودارها و تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار GraphPad Prism (version 9) software انجام شد. به‌منظور مقایسه اعداد در تیمارهای مختلف و به‌دست آوردن سطح اطمینان و *p*-value، از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) استفاده گشته و *p*-value کوچکتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد. تمامی آزمون‌ها با سه بار تکرار انجام شدند.

نتایج و بحث

در طول تاریخ، اکتشافات فضایی انسان را قادر به مطالعه مکانیسم‌های سازگاری با محیط و شرایط خارج از جو زمین نموده است. صرف‌نظر از مخاطرات و عوامل استرس‌زای دیگر مانند تشعشعات کیهانی و الکترومغناطیس، بودجه کلانی برای انجام

این‌گونه آزمایشات نیاز می‌باشد. از این رو کاربرد شبیه‌سازهای زمینی، به پیشرفت این علم کمک نموده است. دستگاه کلینواستت (Clinostat) یکی از این گونه شبیه‌سازها است که با چرخش حول محوری ثابت، قادر به برقراری گرانش‌های متغیر می‌باشد. واژه میکروگراویتی که معادل "بی‌وزنی" در نظر گرفته می‌شود در واقع جاذبه کاملاً صفر نبوده بلکه بسیار نزدیک به صفر می‌باشد. هم‌چنین با تغییر زاویه چرخش کلینواستت، امکان برقراری جاذبه سایر کرات نیز فراهم می‌باشد. بنابراین با استفاده از این دستگاه، می‌توان رفتار مواد و موجودات زنده را در جاذبه‌های متغییر سنجید [۲۳, ۲۴].

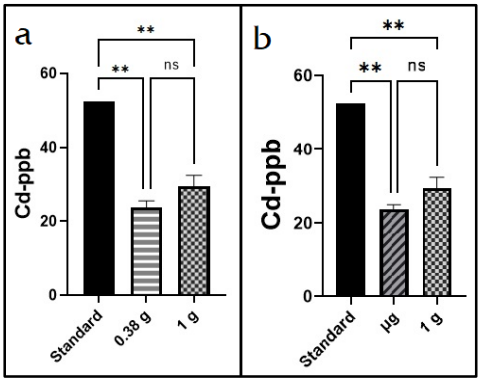
آلودگی فلزات سنگین به عنوان یک خطر عمده برای سلامت عمومی به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه شناخته شده است و تظاهرات سم‌شناسی آن‌ها به خوبی اثبات گردیده است. استراتژی‌های پالایشی مرسوم یا پر هزینه هستند و یا محصولات جانبی سمی تولید می‌کنند که بر محیط زیست تأثیر منفی می‌گذارد. بنابراین، ضرورت یک استراتژی ایمن از نظر زیست محیطی، علاقه به تکنیک‌های بیولوژیکی را برمی‌انگیزد. یکی از عمیق‌ترین رویکردها در سال‌های اخیر، جذب زیستی از طریق زیست توده میکروبی و محصولات آن است که به عنوان روشی مناسب و مقرون به‌صرفه معرفی شده است [۲۵]. در این میان باکتری‌های پروبیوتیک که جزء فلور روده انسان و برخی انواع موجودات زنده می‌باشند نیز در این مقوله پتانسیل بالایی از خود نشان داده‌اند به‌ویژه اینکه مراحل نهایی حذف جاذب نیز ضرورت نخواهد داشت [۱۹, ۲۶]. مواد پلیمری خارج سلولی میکروارگانیسم-ها وزن مولکولی بالایی داشته و عمدتاً از پروتئین‌ها، پلی ساکاریدها، اسیدهای اورونیک، مواد هیومیک، لیپیدها و غیره تشکیل شده اند. یکی از اجزای اساسی آن اگزوپلی ساکارید است که به دلیل دفاع در برابر شرایط سخت قحطی، pH و دما آزاد می‌شود، از این رو فیزیولوژیکی مثال‌زدنی دارد. ویژگی‌های فیزیک-شیمیایی ساختار خالص آنیونی آن به بیوپلیمر اجازه می‌دهد تا به‌طور موثر یون‌های فلزات سنگین با بار مثبت را از محیط جدا کند. باکتری *L.acidophilus* یکی از این‌گونه میکروارگانیسم‌هاست [۲۵]. با توجه به تغییرات ساختارهای سطحی برخی باکتری‌ها در شرایط کاهش جاذبه در خارج از جو زمین [۲۷] و هم‌چنین افزایش قدرت جذب فلزات سنگین به‌دلیل این‌گونه تغییرات [۱۹]، در این مطالعه به مقایسه جذب فلز کادمیوم از آب در شرایط جاذبه مریخ و میکروگراویتی توسط *L. acidophilus* پرداخته شد. نتایج حاصل از باقیمانده غلظت فلز که توسط دستگاه ICP-MASS مورد سنجش قرار گرفت، در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- نتایج جذب فلزی

غلظت اولیه کادمیوم (میکروگرم بر لیتر)	غلظت نهایی کادمیوم پس از تیمار (میکروگرم بر لیتر)		
	۰g (µg)	۰/۳۸ g	۱ g
۵۲/۵	۲۲/۵۲	۲۵/۵۷	۲۷/۴۳
	۲۳/۸۷	۲۳/۷۱	۲۸/۲۸
	۲۴/۸۹	۲۱/۸۵	۳۲/۸۵

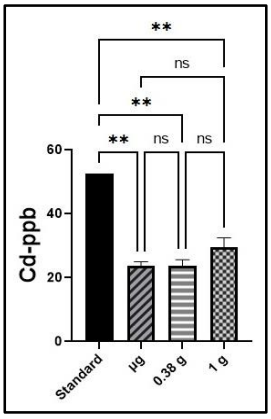
بر اساس نمودارهای اشکال ۲ و ۳ و محاسبه میزان جذب کادمیوم مشخص گردید که باکتری پس از ۲۴ ساعت مجاورت با محلول آبی، ۵۴/۸۴٪ فلز را در شرایط جاذبه مریخ، ۵۴/۷۴٪ را در شرایط میکروگراویتی و ۴۳/۷۷٪ را در شرایط جاذبه ۱g جذب نموده است.

آنالیزهای آماری نشان دادند که میزان جذب فلز در شرایط شبیه‌سازی شده جاذبه مریخ و هم‌چنین جاذبه زمین نسبت به غلظت اولیه فلز، تفاوت معنی‌داری وجود داشته و بنابراین *L acidophilus* موفق به جذب فلز بوده است. اما در میزان جذب کادمیوم توسط باکتری، در شرایط جاذبه مریخ با زمین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (p-value> ۰.۰۵) (بخش a شکل ۲). هم‌چنین در محاسبه میزان جذب در شرایط میکروگراویتی نیز نسبت به غلظت اولیه فلز، شاهد تفاوت معنی داری بودیم (p-value< ۰.۰۵) اما در میزان جذب، میان شرایط میکروگراویتی با جاذبه زمین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (p-value> ۰.۰۵) (بخش b شکل ۲).



شکل ۲ – نمودارهای خوانش غلظت فلز کادمیوم. a) نتایج در شرایط شبیه سازی شده جاذبه مریخ، b) نتایج در شرایط شبیه سازی شده میکروگراویتی. (** indicate p- value< 0.01, ns: non-significant)

در مقایسه کلی نتایج جذب زیستی مشخص گردید که باکتری پروبیوتیک *L. acidophilus* با موفقیت حدود ۵۰٪ ، قادر به جذب فلز سنگین کادمیوم بوده است. به علاوه، تغییرات گرانش، تاثیر چشم‌گیری در میزان زیست پالایی این باکتری نداشته است. آنالیز آماری با آزمون One way ANOVA نشان دهنده تفاوت‌های بدون معنی میان شرایط مختلف جاذبه‌ای بوده است (p-value> 0.05) (شکل ۳).



شکل ۳- نمودار مقایسه نتایج خوانش غلظت فلز کادمیوم در شرایط متغیر جاذبه (** indicate *p*- value< 0.01, ns: non-significant)

نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج مطالعه افشاریان ۲۰۲۲ هم راستا بود که البته مقادیر حذف کادمیوم در شرایط جاذبه طبیعی زمین مربوط به مطالعه مذکور کمتر از نتایج مطالعه پیش‌رو بود که این تفاوت ممکن است به دلیل حضور سه فلز سنگین دیگر سرب، آرسنیک و جیوه در محیط و ایجاد رقابت بین آن‌ها باشد. علاوه بر این علت دیگر این تفاوت ممکن است به بهینه‌سازی غلظت فلز بر اساس مطالعه هادیان [۱۷, ۲۱] در پژوهش حاضر منوط باشد.

دیواره سلولی لاکتوباسیلوس‌ها که متعلق به خانواده باکتری‌های گرم مثبت می‌باشند غنی از ترکیباتی چون تیکوئیک‌اسید، پپتیدوگلیکان، لیپوتیکوئیک اسید، پروتئین S و برخی پروتئین‌های خنثی است. به‌دلیل منفی بودن شارژ این ترکیبات که مربوط به حضور گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل است این باکتری‌ها می‌توانند به خوبی به یون‌های فلزی که واجد بار مثبت هستند متصل گشته و آن‌ها را از محیط جذب کنند [۲۸, ۲۹]. قدرت جذب زیستی آن‌ها با افزایش ضخامت دیواره سلولی رابطه مستقیم دارد و هر تیماری که بتواند ضخامت دیواره را بالا ببرد قدرت زیست پالایی این باکتری‌ها را ارتقا خواهد داد. تغییرات جاذبه شرایطی را فراهم می‌نماید که به دلیل تغییر در نیروی تنش برشی، ممکن است تغییراتی در مورفولوژی، فیزیولوژی، تولید متابولیت‌های ثانویه، بیماری‌زایی، مقاومت به استرس‌های محیطی و ژنتیک سلول‌ها رخ دهد [۲۹, ۳۰]. نتایج مطالعات Mauclaire و همکاران ثابت نموده است که میکروگراویتی شبیه‌سازی شده بر فرآیندهای فیزیولوژیکی باکتری میکروکوکوس لوتئوس تاثیر می‌گذارد تأثیر می‌گذارد. به‌علاوه این سویه در شرایط مذکور پلیمرهای سطح سلولی بیشتری تولید نموده و با سرعت بیشتری رشد می‌نماید. بر اساس دانش موجود اطلاعاتی در مورد تغییرات ضخامت غشای *L. acidophilus* در شرایط کاهش جاذبه موجود نمی‌باشد. اما با توجه به تغییرات پلی‌مرهای خارج سلولی برخی باکتری‌ها در شرایط میکروگراویتی نسبت به جاذبه طبیعی زمین [۲۷]، این مطالعه طراحی گردید. نتایج، حاکی از عدم تفاوت در میزان زیست پالایی فلز کادمیوم هم در شرایط میکروگراویتی و هم جاذبه مریخ، نسبت به جاذبه طبیعی سطح زمین بود. در واقع باکتری پروبیوتیک *L. acidophilus* با قدرتی برابر با شرایط زمینی، قادر به جذب و حذف فلز کادمیوم از آب بود.

نتیجه‌گیری

زیست پالایی فلزات سنگین توسط باکتری‌های پروبیوتیک در رفع آلودگی آب و مواد غذایی به‌عنوان راه‌حلی امن اثبات شده است. لایه‌های سطحی باکتری *L. acidophilus* به‌طور موثر به فلزات سنگین که بار مثبت دارند هم‌چون کادمیوم، متصل شده و آن‌ها را از محلول جدا می‌نمایند. نتایج نشان داد که این قابلیت *L. acidophilus* حتی با تغییرات جاذبه نیز حفظ گشته و در زیست پالایی کادمیوم موفق باقی ماند. نتایج حاصل از این پژوهش می‌تواند در رفع آلودگی فلزات سنگین در زمان ماموریت‌های فضایی به‌منظور حفظ سلامت فضانوردان بهره‌برداری گردد. علاوه بر اینکه این مطالعات به‌منظور جلوگیری از آلودگی‌ها در ماموریت‌های فضایی حائز اهمیت است، می‌تواند درک عمیق‌تری از حیات در خارج از زمین فراهم کند. مطالعات بیشتر در ارتباط با بررسی ضخامت مواد خارج سلولی *L. acidophilus* در شرایط کاهش جاذبه پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نویسنده مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از پژوهشگاه هوافضا اعلام می‌دارد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است

مراجع

[1] M. Salavatifar, S. M. Ahmadi, S. D. Todorov, K. Khosravi-Darani, and A. Tripathy, "Impact of microgravity on virulence, antibiotic resistance, and gene expression in beneficial and pathogenic microorganisms," *Mini Reviews in Medicinal Chemistry, accepted* 2023, doi: 10.2174/1389557523666230109160620

[2] B. Huang, D.G. Li, Y. Huang, and C.T. Liu, "Effects of spaceflight and simulated microgravity on microbial growth and secondary metabolism," *Military Medical Research*, vol. 5, no. 1, pp. 1-14, 2018., doi: https://doi.org/10.1186/s40779-018-0162-9

[3] M.R. Benoit and et al., "Microbial antibiotic production aboard the International Space Station," *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 70, pp. 403-411, 2006, doi: https://doi.org/10.1007/s00253-005-0098-3

[4] S. S. Sonone, S. Jadhav, M. S. Sankhla, and R. Kumar, "Water contamination by heavy metals and their toxic effect on aquaculture and human health through food Chain," *Lett. Appl. NanoBioScience*, vol. 10, no. 2, pp. 2148-2166, 2020, doi: 10.33263/LIANBS102.21482166.

[5] I. Suhani, S. Sahab, V. Srivastava, and R. P. Singh, "Impact of cadmium pollution on food safety and human health," *Current Opinion in Toxicology*, vol. 27, pp. 1-7, 2021, doi: https://doi.org/10.1016/j.cotox.2021.04.004 .

[6] T.-H. Kim and et al., "Exposure assessment and safe intake guidelines for heavy metals in consumed fishery products in the Republic of Korea," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 27, no. 26, pp. 33042-33051, 2020, doi: https://doi.org/10.1007/s11356-020-09624-0 .

[7] W. Duan and et al., "Levels of a mixture of heavy metals in blood and urine and all-cause, cardiovascular disease and cancer mortality: A population-based cohort study," *Environmental Pollution*, vol. 263, p. 114630, 2020, doi: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114630 .

[8] D. Glicklich, C. T. Shin, and W. H. Frishman, "Heavy metal toxicity in chronic renal failure and cardiovascular disease: possible role for chelation therapy," *Cardiology in Review*, vol. 28, no. 6, pp. 312-318, 2020, doi https://doi.org/10.1097/CRD.0000000000000304

[9] B. Fagerberg and L. Barregard, "Review of cadmium exposure and smoking-independent effects on atherosclerotic cardiovascular disease in the general population," *Journal of internal medicine*, vol. 290, no. 6, pp. 1153-1179, 2021, doi: https://doi.org/10.1111/joim.13350 .

[10] P. Sharma, H. M. Iqbal, and R. Chandra, "Evaluation of pollution parameters and toxic elements in wastewater of pulp and paper industries in India: A case study," *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, vol. 5, p. 100163, 2022, doi: https://doi.org/10.1016/j.cscee.2021.100163 .

[11] M. Balali-Mood, K. Naseri, Z. Tahergorabi, M. R. Khazdair, and M. Sadeghi, "Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic," *Frontiers in pharmacology*, p. 227, 2021, doi: https://doi.org/10.3389/fphar.2021.643972 .

[12] E. Bianchi, and et al., "Improving the efficiency of wastewater treatment plants: Bio-removal of heavy-metals and pharmaceuticals by Azolla filiculoides and Lemna minuta," *Science of The Total Environment*, vol. 746, p. 141219, 2020, doi: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141219.

[13] A. Zoghi, and et al., "Effect of pretreatments on bioremoval of metals and subsequent exposure to simulated gastrointestinal conditions," *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, vol. 14, no. 3, pp. 145-155, 2022, doi: https://doi.org/10.15586/qas.v14i3.1012 .

[14] H. Kinoshita, and et al., "Biosorption of heavy metals by lactic acid bacteria and identification of mercury binding protein," *Research in microbiology*, vol. 164, no. 7, pp. 701-709, 2013, doi: https://doi.org/10.1016/j.resmic.2013.04.004 .

[15] K. A. Hussein, S. H. Hassan, and J. H. Joo, "Potential capacity of Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae in the biosorption of Cd2+ and Pb2+," *The Journal of General and Applied Microbiology*, vol. 57, no. 6, pp. 347-355, 2011, doi: https://doi.org/10.2323/jgam.57.347.

[16] R. S. Mirmahdi , and et al., "Biodecontamination of milk and dairy products by probiotics: Boon for bane," *Italian Journal of Food Science*, vol. 33, no. SP1, pp. 78-91, 2021, https://doi.org/10.15586/ijfs.v33iSP2.2053 .

[17] M. R. Hadiani, K. Khosravi-Darani, N. Rahimifard, and H. Younesi, "Assessment of mercury biosorption by Saccharomyces cerevisiae: response surface methodology for optimization of low Hg (II) concentrations," *Journal of environmental chemical engineering*, vol. 6, no. 4, pp. 4980-4987, 2018, doi: https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.07.034 .

[18] R. Massoud, K. Khosravi-Darani, A. Sharifan, G. Asadi, and A. Zoghi, "Lead and cadmium biosorption from milk by Lactobacillus acidophilus ATCC 4356," *Food Science & Nutrition*, vol. 8, no. 10, pp. 5284-5291, 2020, doi: https://doi.org/10.1002/fsn3.1825 .

[19] Z. Afsharian, M. Salavatifar, and K. Khosravi_Darani, "Impact of simulated microgravity on bioremoval of heavy-metals by Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 from water," *Heliyon*, vol. 8, no. 12, 2022, doi: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12307.

[20] S. Sieuwerts, F. A. De Bok, E. Mols, W. M. De Vos, and J.E van Hylckama Vlieg, "A simple and fast method for determining colony forming units," *Letters in applied microbiology*, vol. 47, no. 4, pp. 275-278, 2008, doi: https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02417.x .

[21] M. R. Hadiani, K. K. Darani, N. Rahimifard, and H. Younesi, "Biosorption of low concentration levels of Lead (II) and Cadmium (II) from aqueous solution by Saccharomyces cerevisiae: Response surface methodology," *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, vol. 15, pp. 25-34, 2018, https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.05.001

[22] M. Salavatifar, N. Mosallaei, and A. H. Salmanian, "Heterologous Expression of Shiga-Like Toxin Type 2 in Microgravity Condition," *Space Science and Technology*, vol. 15, no. 4, pp. 103-113, 2022, doi: https://doi.org/10.30699/jsst.2023.1396

[23] U. Nations, "Teacher's Guide to Plant Experiments in Microgravity. Human Space Technology Initiative," ed: United Nations Programme on Space Applications, Publishing and Library,2013.

[24] Z. Hajebrahimi, "3-D clinostat for microgravity simulation in cellular and molecular studies," *Journal of Technology in Aerospace Engineering*, vol. 1, no. 2, pp. 27-33, 2017 (in Persian)

[25] P. Gupta and B. Diwan, "Bacterial exopolysaccharide mediated heavy metal removal: a review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies," *Biotechnology Reports*, vol. 13, pp. 58-71, 2017, doi: https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.12.006.

[26] R. S. Mirmahdi, V. Mofid, A. Zoghi, K. Khosravi_Darani, and A. M. Mortazavian, "Risk of low stability Saccharomyces cerevisiae ATCC 9763-heavy metals complex in gastrointestinal simulated conditions," *Heliyon*, vol. 8, no. 5, 2022, doi: DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e09452.

[27] L. Mauclaire and M. Egli, "Effect of simulated microgravity on growth and production of exopolymeric substances of Micrococcus luteus space and earth isolates," *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, vol. 59, no. 3, pp. 350-356, 2010, doi: https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00683.x

[28] S. Xing , and et al., "Lead biosorption of probiotic bacteria: effects of the intestinal content from laying hens," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 24, pp. 13528-13535, 2017, doi: https://doi.org/10.1007/s11356-017-8896-6

[29] G. Senatore, F. Mastroleo, N. Leys, and G. Mauriello, "Effect of microgravity & space radiation on microbes," *Future microbiology*, vol. 13, no. 07, pp. 831-847, 2018, doi: https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0251.

[30] C. A. Nickerson, C. M. Ott, J. W. Wilson, R. Ramamurthy, and D. L. Pierson," Microbial responses to microgravity and other low-shear environments," *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 68, no. 2, pp. 345-361, 2004, doi: https://doi.org/10.1128/mmbr.68.2.345-361.2004