جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات

دراسة مسحية لنسبة بعض المعادن الثقيلة في حليب الابقار في محافظة نينوى وتقييم قدرة المعززات الحيوية على إزالتها

نورا أحمد طه أحمد الشرابي

رسالة ماجستير
علوم الأغذية

إشراف
الدكتورة هلا عبد الهادي صالح
مدرس

1445 هـ
2023م

الخلاصة

تضمنت الدراسة التي أجريت في مختبرات كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل والمختبرات الأهلية (مختبر الـDNA Lab) جمع (90) عينة من حليب الأبقار من مناطق مختلفة متعرضة للتلوث ضمن حدود محافظة نينوى ، وقسمت المناطق على ثلاث مجاميع :المجموعة الاولى شملت مناطق قريبة من المنشآت الصناعية ، والمجموعة الثانية تضمنت مناطق قريبة على شوارع ذات حركة مرورية مكثفة ، اما المجموعة الثالثة فكانت حقول زراعية يستعمل فيها المبيدات والاسمدة الكيمائية واستغرقت مدة جمع العينات ثلاثة أشهر من شهر حزيران 2022 لغاية شهر ايلول 2022.

استهدفت الدراسة الحالية التحري عن تلوث عينات حليب الأبقار التي جمعت من مناطق الدراسة المذكورة بعدد من أنواع المعادن الثقيلة مثل (الرصاص ، والكادميوم، والزنك) عن طريق قياس تراكيزها بواسطة جهاز مطياف الامتصاص الذري (Atomic Absorption Spectrophotometer) ومقارنتها بالحدود المسموح بها التي حددتها كل من منظمة الغذاء ومنظمة الصحة العالمية . ومن ثم تقييم قدرة المعززات الحيوية من جنس بكتريا حامض اللاكتيك على خفض تراكيز هذه المعادن ، ولغرض ذلك أستعملت عزلة تجارية تحتوي أنواع مختلفة من المعززات الحيوية مثل (***Lactobacillus acidophilus***، ***Lactobacillus plantarum*** ، ***streptococcus salivarius subsp. thermophilus*** و ***Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus***) وعزلة محلية تم عزلها من حليب الأبقار ثم تشخصيها مجهرياً وكيموحيوياً فضلاً عن التشخيص الجيني عن طريق تضخيم مناطق من جين 16SrRNA.

أظهرت نتائج الدراسة أن عنصر (الرصاص) في عينات الحليب المجموعة من مناطق الدراسة كافة قد تجاوز الحد المسموح به في الحليب ضمن التوصيف القياسي العراقي والعالمي وهي (0.02) جزء بالمليون ، وكانت المناطق القريبة من منشآت صناعية أكثر المناطق تلوثاً بعنصر الرصاص إذ بلغ تركيزه (0.045) جزء بالمليون، تليها منطقة الحقول الزراعية إذ كان معدل تركيزه (0.032) جزء بالمليون، أما أقل المناطق تلوثاً بالرصاص كانت بالقرب من شوارع ذات حركة مرور عالية إذ بلغ تركيزه (0.044) جزء بالمليون ولم تسجل أي فرق معنوي بمستوى احتمالي (أ $\leq$ 0.05) بين معدلات تراكيز الرصاص بعينات حليب مناطق الدراسة الثلاثة .

كما أشارت النتائج إلى تجاوز عنصر (الكادميوم) في عينات حليب جميع مناطق الدراسة للحدود المسموح فيها بالحليب ضمن التوصيف القياسي العراقي والعالمي وهي(0.002) جزء بالمليون إذ تم تسجيل أعلى قيمة حسابية سجلت في المناطق القريبة من المنشات الصناعية والمناطق القريبة من الشوارع ذات الحركة المرورية العالية وعلى حد سواء وكانت (0.008) جزء بالمليون ، ولم تسجل أي فروقات معنوية عند مستوى احتمالية (أ $\leq$ 0.05) في تركيز الكادميوم بين عينات الحليب في جميع مناطق الدراسة .

أكدت النتائج عدم وجود أي تلوث بعنصر (الزنك) في عينات حليب الأبقار التي كانت ترعى قريباً من مناطق الدراسة الثلاثة ،إذ لم تتجاوز نسب تراكيزه للحدود المسموح فيها بالحليب ضمن التوصيف القياسي العراقي والعالمي وهي (0.328) جزء بالمليون ، ولم تسجل أية فروقات معنوية في تراكيز الزنك عند مستوى احتمال (أ $\leq$ 0.05) بين عينات المناطق كافة.

ولغرض حل مشكلة التلوث في الحليب بالمعادن الثقيلة أستعملت عزلات تجارية ومحلية من معززات حيوية واضيفت للحليب الملوث . بينت نتائج الدراسة أن العزلة التجارية (***Lactobacillus plantarum*** ، ***Lactobacillus acidophilus*** ، ***Streptococcus thermophiles*** و ***Lacrobacillus bulgaricus***) كان لها دور ملحوظ في تخفيض سمية العناصر الثقيلة (الرصاص ، والكادميوم والزنك) في الحليب ، بينما كانت العزلة المحلية كفاءة عالية في الإزالة الحيوية لسمية العناصر الثقيلة.

اما بالنسبة للعزلة المحلية فقد تم عزل بكتريا *Lactobacillus acidophilus* من حليب الأبقار وإجراء الاختبارات المجهرية عليها والفحوصات الكيموحيوية وأعطت نتيجة موجبة ولغرض تأكيد التشخيص تم استخلاص الدنا من البكتريا وتضخيم مناطق من جين 16S rRNA بوساطة تفاعل البلمرة المتسلسل وأظهرت النتائج وجود الجين ثم أجري اختبار تتابع القواعد النتروجينية وسجلت العزلة عالمياً لأول مرة كسلالة جديدة في بنك الجينات (المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية (NCBI).

لم تسجل أية فروقات معنوية عند مستوى احتمال (أ < 0.05) في المتغيرات الكيمائية للبن الرائب المضاف له العزلة المحلية التي شملت (الرطوبة، والمواد الصلبة الكلية، والأس الهيدروجيني) في حين سجلت المتغيرات الفيزيائية (نضوح الشرش) والمتغيرات البكتريولوجية (تقدير أعداد بكتريا).

الفصل الأول

المقدمة

إن التلوث البيئي "Pollution" مصدر قلق يومي لشرائح المجتمع المختلفة بسبب تعدد صوره وتنوع أشكاله المؤثرة سلباً في البيئة وصحة الإنسان. فالتلوث هو تغيير كمي ونوعي في مكونات الكرة الأرضية عن الحد الطبيعي سواء أكان زيادةً أو نقصاناً، مما يسبب خلل في التوازن الطبيعي في مكونات النظام البيئي. إذ يمثل تلوث الغذاء مؤشراً حيوياً للتلوث البيئي، ومن أهم المواد الغذائية الضرورية التي لا غنى عنها للكبار والصغار (الحليب)، وهو المصدر الغذائي الأول للإنسان وخاصة الأطفال، الحليب هو الإفراز الطبيعي للغدد اللبنية لجميع اللبائن، ويلبي الاحتياجات الغذائية كافة للجسم. ويوجد الحليب في عدة صور إما طازج، مجفف (بودرة)، أو معلب، ولكن هذه الصور جميعها تتعرض للتلوث، إذ يحصل تلوث الحليب في أثناء عملية التخزين، التبريد أو من خلال التغليف، التعليب أو بسبب الهواء الملوث، شرب الماء الملوث، الغذاء الملوث أو بأية وسيلة أخرى تسبب تلوث الحليب، مما يسبب أضراراً صحيةً للإنسان على المدى القصير أو الطويل. والمقصود هنا بالأضرار الصحية ليس فقط أعراض التسمم المعروفة كالإسهال أو ارتفاع درجة الحرارة وغير ذلك، فقد تكون الأضرار بسبب وجود المعادن الثقيلة "Heavy Metals" مثل الرصاص ، الكادميوم والزنك التي يحصل لها تراكم داخل جسم الإنسان، مما ينعكس على صحة المستهلك وسلامته ولاسيما الأطفال، إذ إن تلوث الغذاء يمثل عنواناً بارزاً ومزعجاً للمستهلكين، فالمعادن الثقيلة لها القدرة على التغيير في صحة الكائنات الحية ولاسيما الإنسان (علي، 2021).

إن سلامة الأغذية هي الشرط الأساسي لصحة الإنسان والسلامة العامة أصبح من الضروري البحث عن طرائق حديثة تضمن ذلك ومنها المعالجة الحيوية هي تقنية حديثة تستعمل لإزالة المعادن الثقيلة و/أو استعادتها من البيئات الملوثة، وتعتمد هذه التقنية على آليات بيولوجية للقضاء على الملوثات الخطرة بإستعمال الكائنات الحية الدقيقة . وتعد تقنية صديقة للبيئة وفعالة من حيث التكلفة ، بالمقارنة مع التقنيات الكيميائية والفيزيائية التقليدية، التي غالباً ما تكون أكثر

تكلفة وغير فعالة، لايسيما فيما يخص تركيزات المعادن المنخفضة (Massoud وآخرون، 2020).

تتمتع أنواع بكتريا حامض اللاكتيك بقدرة امتزاز عالية للمعادن الثقيلة بسبب الكميات الكبيرة من أحماض الببتيدوغليكان والتيتشويك(peptidoglycan and teichoic acids) في جدران خلاياها. وأظهرت العديد من الدراسات أن لديها قدرة عالية على التحمل وميل إلى امتصاص المعادن الثقيلة في الماء والغذاء(Massoud واخرون،2019).

هدفت هذه الدراسة إلى التحقيق في كفاءة الإزالة البيولوجية للمعادن الثقيلة لانواع من بكتريا حامض اللاكتيك. اذلا توجد دراسات كافية عن تأثير الامتصاص الحيوي للمعادن الثقيلة بواسطة هذه البكتيريا، إذ تعاني المدن ولاسيما مدينة الموصل من التلوث البيئي الذي أصبح خطراً يهدد المجتمعات، ووضعت استراتيجيات خاصة لحل هذه المشكلة من خلال علم صناعة الألبان وصياغة رؤية مستقبلية لإنتاج ألبان صحية لذا هدفت الدراسة إلى التحقق في كفاءة الازالة البيولوجية للمعادن الثقيلة لأنواع بكتريا حامض اللاكتيك ويتم ذلك من خلال

1. دراسة مستويات عدد من العناصر الثقيلة مثل (الرصاص، والكادميوم والزنك) في حليب الأبقار وعدد من منتجاته في عدد من المناطق المختلفة لمحافظة نينوى وتقدير مدى تلوث حليب الأبقار بالمعادن الثقيلة لمعرفة أي المناطق يعدّ الحليب فيها أكثر تلوثاً. لكون الحليب يعد موشراً بايلوجياً لقياس مقدار التلوث.
2. تقييم قدرة المعززات الحيوية (سلالات من بكتريا *Lactic acid bacteria or probiotic bacteria*) على امتصاص المعادن الثقيلة (الرصاص ، والكادميوم والزنك) من اللبن المصنع من الحليب الملوث، لاعتمادها فيما بعد كاحد الطرائق المفيدة للإزالة حيوية للمعادن الثقيلة.

Summary

The study, which was conducted in the laboratories of the College of Agriculture and Forestry / University of Mosul and private laboratories, included collecting (90) samples of cow's milk from different areas exposed to pollution within the borders of Nineveh Governorate. The regions were divided into three groups: the first group included areas close to industrial facilities, areas close to streets with intense irrigated traffic, while the third group included agricultural fields in which pesticides and chemical fertilizers were used, and the sampling period took from June 2022 to December 2022.

The current study aimed to investigate the contamination of cow's milk samples collected from the aforementioned study areas with some types of heavy metals such as (lead, cadmium, zinc) by measuring their concentrations and comparing them with the permissible limits set by the Food and World Health Organization. Then, the ability of probiotics from the genus lactic acid bacteria to reduce the concentrations of these minerals was evaluated. For this purpose, a commercial isolate containing different types of probiotics was used, such as (***Lactobacillus plantarum*** , ***Lactobacillus acidophilus*** , ***Streptococcus thermophiles and Lacrobacillus bulgaricus***) And a local isolate that was isolated from cow's milk, then diagnosed microscopically and biochemically, in addition to genetic diagnosis by amplifying regions of the 16SrRNA gene.

The results of the study showed that the element (lead) in the milk samples collected from all study areas exceeded the permissible limits for milk within the Iraqi and international standards, which are (0.02) ppm. The areas close to industrial facilities were the most contaminated with lead, with a concentration of (0.045) ppm, followed by the agricultural

fields, where the average concentration was (0.032) ppm. The least contaminated areas with lead were near streets with high traffic, as its concentration reached (0.044) ppm. No significant differences were recorded at the level of probability ($a < 0.05$) between the average lead concentrations in the milk samples of the three study areas.

The results also indicated that the element (cadmium) in milk samples in all study areas exceeded the permissible limits in milk within the Iraqi and international standards, which are (0.002) ppm. Where the highest arithmetic value was recorded in areas close to industrial facilities and areas close to streets with high traffic, and it was (0.008) ppm, No significant differences were recorded at the level of probability ($a < 0.05$) in the concentration of cadmium between milk samples in all study areas.

The results confirmed the absence of any contamination with the element (zinc) in the milk samples of cows that were grazing close to the three study areas, as its concentrations did not exceed the permissible limits in milk within the Iraqi and international standards, which are (0.328) ppm. No significant differences were recorded in zinc concentrations at the probability level ($A < 0.05$) among samples from all regions.

In order to solve the problem of milk contamination with heavy metals, commercial and local isolates of probiotics were used and added to the contaminated milk. The results of the study showed that commercial isolation (*Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus, Streptococcus thermophiles, and Lacrobacillus bulgaricus*) It had a significant role in reducing the toxicity of heavy elements (lead, cadmium and zinc) in milk. With regard to the local isolate, it showed

high efficiency in the biological removal of the toxicity of heavy elements

As for the local isolate, *Lactobacillus acidophilus* was isolated from cow's milk and microscopic tests were performed on it, and then biochemical tests gave results positive , For the purpose of confirming the diagnosis, DNA was extracted from the bacteria and regions of the 16S rRNA gene were amplified by polymerase chain reaction. The results showed the presence of the gene, then a nitrogen base sequence test was carried out, and the isolate was recorded globally for the first time as a new strain in the Gen Bank (National Centre for Biotechnology Information (NCBI).

No significant differences were recorded at the probability level ($a < 0.05$) in the chemical variables of Yogurt added to the local isolate, which included (humidity, total solids, pH), while the physical variables (whey exudation) and bacteriological variables (the amount of lactic acid bacteria) were recorded. Significant differences at the same level of probability.

University of Mosul
College of Agriculture and Forestry

Survey of the Percentage of Some Heavy Metals in Cow's Milk in Nineveh Governorate and Evaluation the Ability of Probiotics to Remove them

Nora Ahmed Taha Ahmed Al-Sharabee

Master Thesis

Food science

Supervised by

Dr. Hala Abdalhadi Salih

Lectuer

1445 A.H. **2023 A.D.**