جامعة الفيوم
كلية الزراعة
قسم الميكروبيولوجيا الزراعية

البحث السادس | **منفرد تخصص مقبول للنشر**

عنوان البحث والمجلة:

Safe biodegradation of textile azo dyes by newly isolated lactic acid bacteria and detection of plasmids associated with degradation

Journal of Bioremediation & Biodegradation

التكسير والتخلص الآمن من صبغات النسيج بواسطة بكتيريا حمض اللاكتيك وتحديد البلازميدات المسئولة عن التكسير

خالد البنا [١]، جمال حسان [٢]، منال خضر [٣]، رأفت مندور [٤]
(١) قسم الميكروبيولوجيا، (٢) قسم الوراثة، (٣) قسم علوم الألبان. كلية الزراعة- جامعة الفيوم– (٤) معمل السموم بمستشفيات جامعة المنصورة. مصر

الملخص العربى

صبغات الـــ Azo هى مجموعة كبيرة من المواد الكميائية المخلقة والتى تستخدم على نطاق واسع فى أغراض النسيج وصباغة الجلود ومواد التجميل وكملونات للأغذية وصناعة الورق، ولقد وجد ان حوالى ١٥% من هذه الصبغات تجد طريقها إلى مياه الصرف اثناء هذه الصناعات ، علاوة على أن نواتج التكسير غيرالكاملة لهذه الصبغات يعتبر مسرطن وغيرآمن للإنسان وكذلك سام للكائنات المائية والنباتات. ونظرا لأن معالجة مخلفات مثل هذة الصبغات يتطلب مرحلتين للمعالجة :لاهوائية ثم هوائية ،كما ان البعض يستخدم خليط consortium من الميكروبات للتخلص من مثل هذه الصبغات، لذا إستهدف هذا البحث استخدام ميكروب واحد له خاصية النمو فى الظروف اللاهوائية و الهوائية لتكسير مجموعة من صبغات النسيج تكسيرا آمنا، وتضمن هذا البحث مجموعة من النقاط البحثية الهامة كانت كما يلى:

النقطة البحثية الأولى:

تضمنت هذه النقطة عزل ١٢٠ عزلة من بكتيريا حمض اللاكتيك تم عزلها من منتجات ومخلفات الألبان ووجد ان حوالى ٨٠ عزلة منها تستطيع تكسير صبغات النسيج بكفاءة تراوحت مابين ٧٥ الى ١٠٠% ، ووجد ان ثلاثةعزلات منها تسطيع تكسير اكثر من صبغة بكفاءة تصل الى ١٠٠%خلال فترة قصيرة.

النقطة البحثية الثانية:

تضمنت التصنيف الكامل لأهم ثلاث عزلات وهى Lab 2, Lab 11 and Lab13 وذلك بإستخدام تقنية الـــ 16s rDNA وكذلك بإستخدام API 50CHL ، حيث وجد أن العزلة Lab 2 تنتمى إلى النوع *Lactobacillus rhamnosus* بدرجة تشابه ٩٩% ، وأن العزلتيين Lab 13 , Lab11 تنتميا إلى النوع *Lactobacillus casei* بدرجة تشابة ٩٩%.

النقطة البحثية الثالثة:

وتضمنت هذه التجربة تتبع وتحليل نواتج تكسير احد هذه الصبغات بإستخدام العزلة Lab2 ، حيث تم إضافة صبغة الـــ Erichrom Lanaso Black بتركيز ١٠٠ ملليجرام فى اللتر ثم التحضين لاهوائيا لمدة ١٠ساعات ، اعقبه

تحضين هوائى لمدة ٤ ساعات وتم سحب عينات على مدار مراحل التحضين المختلفة وإستخلاص نواتج التكسير وتحليلها بواسطة جهاز HPLC . ومن نتائج هذه التجربة لوحظ انه فى بداية التكسير اللاهوائى ظهور Peaks مختلفة تزداد مساحتها بمرور الوقت حتى وصلت أقصاها فى نهاية هذه المرحلة، وعلى العكس من ذلك فى مرحلة التحضين الهوائى لوحظ ان مساحتها تتناقص بمرور الوقت إلى ان إختفت تماما بنهاية هذه المرحلة، مما يدل على أن الميكروب استخدم نواتج التكسير كمصادر للطاقة فى عملية التمثيل الغذائى .

النقطة البحثية الرابعة:

وكانت بغرض التعرف على البلازميدات المشاركة فى عملية التكسير ، وفى هذه التجربة تم إجراء تجربة لاختبار مدى حساسية العزلات البكتيرية لبعض المضادات الحيوية(كاناميسين ، جانتاميسين ، تتراسيكلين والامبسيلين) واختيار العزلات التى أبدت مقاومة لهذه المضادات الحيوية لاستخدامها فى تجارب طرد البلازميدات من الخلايا البكتيريهPlasmid curing وذلك باستخدام تركيزات مختلفة من بروميد الايثيديوم(EtBr) والصوديوم دودى سيل سلفات (SDS) واضافتها للمعلق الخلوى على درجةحرارة الغرفة مرة ومع درجة الحرارة العالية مرة اخرى 42°C، وتحديد العزلات التى حدث لها Cured من خلال فقدها صفة المقاومة للمضادات الحيوية ومن هذه الدراسة وجد ان المعاملة بالـــ SDS على درجة حرارة 42°C أفضل المعاملات التى أدت إلى طرد البلازميدات والحصول على Cured derivatives،تم فصل البلازميدات لكلا من العزلات (Cured and Non Cured) وإجراء تفريد كهربى لـ DNA الناتج وأظهرت صورة الجيل إختلاف العزلات فى محتواها البلازميدى كما وجد أن العزلة Lab 2 أختفت منها البلازميدات بأحجام 3, 16 kbp وأن العزلة Lab11 أختفت منها البلازميدات بأحجام2.5, 3, 16 kbp بينما العزلة Lab 13 أختفى منها بلازميد واحد فقط بحجم 3 kb ، وبدراسة قدرة العزلات (Cured and Non Cured) على تكسير الصبغات وجد أن العزلات التى فقدت بلازميداتها فقدت قدرتها على تكسير الصبغات وهذه النتائج تشير الى أن الجينات المسؤلة عن التكسير هى جينات بلازميديه ، كما تشير الى انه ربما يكون البلازميد بحجم 3kb هو المسئول بشكل أساسى فى عملية تكسير الصبغات بالنسبة للعزلات الثلاثه.

النقطة البحثية الخامسة:

وفيها تم دراسة مدى سمية النواتج النهائية لتكسير هذه الصبغات على إنبات بذور الذرة الرفيعة ، حيث تم إستخلاص النواتج النهائية لتكسير صبغة الـ Erichrom Lanasol Black بواسطة خلات الإثيل وعمل محلول منها بتركيز ١٠٠٠ملليجرام /لتر لرى البذور لمدة اسبوع ، ومن نتائج هذه التجربة وجد النواتج النهائية للتكسير أقل سمية من الصبغة الأصلية ، حيث وجد أن نسبة الإنبات للنواتج النهائية للتكسير كانت ٩٢,٢ فى مقابل ٣٥,٣% للصبغة الأصلية.

وبصفة عامة يمكن القول أن عزلات بكتيريا حمض اللاكتيك المستخدمة فى هذه الدراسة والتى أظهرت نشاطا غير عاديا فى تكسير هذه الصبغات تكسيرا آمنا يمكن أن تستخدم كعزلات واعدة فى مجال معالجة مياه صرف المصانع المنوطة باستخدام هذا النوع من الصبغات.