النمو البكتيري لبعض الاحياء المجهرية على اقراص بوليمر الاثيلين العالي والواطئ الكثافة المطعم بنشارة نبتة العاقول(*AlhagiGraecorum*)

تاريخ الاستلام : 2013/6/30 تاريخ القبول :2015/1/26

حميد عبد الرزاق حمادي
جامعه البصرة \كليه تربية/ القرنة, قسم علوم الحياة
Email:hamymham@gmail.com

الخلاصة :
تم في هذا البحث استخدامخمسه من البكتريا *Escherichia ,Streptocouuspyogenes, Staphylcoccusaureas coliPseudomonas.spp.,Klebsialla* spp., لدراسة النمو البكتيري على اقراص من بوليمر الاثيلين العالي والواطئ الكثافة والمطعم بدقائق نبتة العاقول واستخدمت طريقة الانتشار بالقرص لهذا الغرض. اذ تم الحصول على المزارع البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغه كرام من مختبر الاحياء المجهرية في كليه الطب البيطري جامعه البصره وتم تأكيدها من خلال الاختبارات الحيوية التشخيصيه
كانت نسبه العاقول الوزنية الداخله في تركيب الخليط البوليمري (بولي اثيلين /دقائق نبتة العاقول) هي 35%. حقنت اقراص بوليمر الاثيلين بنوعيه العالي والواطئ الكثافة ذات قطر 5 مليمتر في الإطباق الزجاجية ذات قطر 90 ملم لمده 24 ساعة ومراقبه وتسجيل منطقه النمو البكتيري وبينت النتائج المستحصلة ظهور نمو بكتيري لعموم المزارع البكتيرية مع امتيازه بالكثافة حول أقراص بوليمر الاثلين الواطئ عما هو عليه عند الاعلى كثافه وفسرت النتائج اعتمادا على طبيعه الخواص الفيزيائية الكيميائية والتفاعل الكهروستاتيكي بين الشحنة السالبة لجدار البكتريا وبين البوليمر المضيف والمضاف دقائق نبته العاقول وايضا وجود قوه فاندرفالز والمجاميع المحبهوالكارهه للماء حيث تباينت اقطار هذا النمو حول هذا القرص ضمن المدى (1ملم و17 ملم) لكل من بكتريا *Escherchia coli,Streptocouus.spp. , pyogenes* وعلى *التوالي* ويمكن القول ان هذا النوع من البوليمرات ذات اهميه كبيره في مجال الحفاظ على البيئة من خلال قابليه التحلل الاحيائي وخصوصا عند دفنها في التربه.

الكلمات المفتاحية: بولي اثيلين , عالي الكثافة , العاقول , الانتشار بالقرص , بكتريا , بوليمر

MicrobiologyClassification QR 75-99.5

المقدمة :

يتميز بوليمر الإيثلين بالكثافة العالية والصلابة وتحمله درجات حرارة حتى 120 مئوية ويستخدم في صناعة عبوات الأغذية التي تتحمل درجات حرارة التسخين والتعقيم ومقاومه التمزق والمتانة وغيرها من الصفات المرغوبة التي تتطلبها الاستخدامات العمليه لهذه البوليمرات مثل صناعه اكياس التغليف والأغطية البلاستيكيه والزراعية وانابيب المياه المعدنية وصناديق النقل وخزانات الماء وايضا في المجالات الطبية في صناعه الأنسجة [1-6]

. وتعتبر الأبحاث الجارية الآن إضافة مستحدثة أخرى نقلت إلى بعض أنواع البلاستك القدرة لقتل بعض مسببات المرض كالبكتريا والجراثيم والفطريات بمجرد التلامس ويمكن إنتاج أنواع كثيرة لا حصر لها من البلاستك المضاد للبكتريا اذ يحرّر البوليمر المواد العلاجية على فترات طويلة نسبيًا. وسرعان ما ظهرت تطبيقات كثيرة في هذا المجال، مثل: تصنيع فرش الأسنان المبيدة للجراثيم، والمحارم، ولعب الأطفال. لكن يعيب هذه الطريقة أن هذه المنتجات تفقد فاعليتها ببطء بمرور الوقت[7].

ان التطورات المهمة في هذه التقنيه تتضمن اضافه المضادات الحيوية الى هذه البوليمرات ومنها البولي اثيلين عالي الكثافة إذ إن العامل المضاف والمضاد لهذه البكتريا يجب ان يكون غير سام ومستقر عند درجه حراره 125 مئوية ولا يحتوي على الفينولات والقصدير والرصاص او الفورماليديهايد[8]اذ يعمل العامل الحيوي المضاد والمدمج مع البولي اثيلين على تعطيل عمل او تمزيق اغشيه هذه البكتريا [7,8]ولكن مع بروز هذا التطور في استخدام البوليمرات في مجال المضادات الحيوية فقد اشارت البحوث الى جانب اخر الا وهو التغيرات الجينية التي تطرا على البكتريا كما هو الحال في بوليمر الاثيلين كلايكولعلىخميرة *Saceharmycescerevisiae*و *Escherichia coli*وظهر هذا التأثير أيضا عند استخدام البولي اثيلين كلايكول العالي الكثافه على بكتريا *Pseudomonas Stutzeri*[10-14].

الا ان هذا التغير الجيني لم يظهر على نفس البكتريا عند استخدام بولي بروبلين واشارت بحوث اخرى الى ان اضافه اوكسيد البولي اثيلين الى بوليمر الاثيلين يزيد قابليه البوليمر على مقاومه انواع مختاره من البكتريا [15]

ان هذه التقنية الجديدة فتحت بابا في استخدام البوليمرات ضمن التقنيات الحيوية والتغيرات الجينية للبكتريا تجاه مصلحه البشرية وللتخلص من مشكله تجمع النفايات والتخلص منها باقل ضرر بيئي وباقل كلفه من خلال

استخدام البكتريا لتحليل هذه البوليمرات الى مواد اوليه مع سهوله التخلص منها [7] اذ ان انحلال البوليمرات لتكوين جزيئات صغيره يمكن ان يحدث على شكل قطع عشوائي او قطع نوعي اذ يحدث الانحلال العشوائي للبولي اثيلين على سبيل المثال لا الحصر نتيجة لتفكك العوامل الرابطه بفعل انزيمات الاحياء المجهريه ويتم بعدها امتصاص المونمرات الناتجة من قبل خلايا الاحياء المجهريه بفعل التحلل الاحيائي ومن هنا جاء استخدام بوليمر الاثيلين عالي الكثافة في هذا البحث بعد تطعيمه بنشاره الخشب وبنسب وزنية مختلفة لدراسة تأثير انواع مختاره من البكتريا ومعرفة مدى فاعلية مضاف نشاره الخشب كمضاد بكتيري فعال واثره على نوعية التطبيقات الصناعية التي يدخل فيها بوليمر الاثيلين .

المواد وطرائق العمل :

يعرف نبات العاقول علميا باسم *AlhagiGraecorum* حيث ان الجزء المستعمل من النبات جميع أجزائه بما في ذلك الجذور. العاقول نبات عشبي معمر دائم الخضرة شوكي يصل ارتفاع النبات الى 60سم، الزهرة صغيرة حمراء قرمزية تخرج من جوانب الأشواك، الثمرة قرنية داكنة اللون اسفنجية يظهر عليها تخصرات بين مواقع البذور ويحتوي نبات العاقول على مواد كربوهيدراتية وجلوكزيداتوفلافونيدات ومواد عفصية وستيرولات غير مشبعة ومواد راتنجية وسكر مختزل وزيت طيار ولكن الجذور لا تحتوي على اي نسبة من الزيت الطيار كما يحتوي النبات على مواد انثراكينونية ومواد صابونية.

تم تحضير نماذج البولى اثيلين العالى والواطئ الكثافه والعالي الكثافة والمطعمين بدقائق نبتة العاقول بالتعاون مع معمل البتروكيمياويات فى البصره وحسب طريقه العمل الوارده في المصدر (1) حيث كان حجم دقيقه العاقول المستخدمه هو 600 مايكرومتر و تم تقطيع النماذج على هيئه اقراص دائريه بقطر 5 ملم ويوضح الجدول رقم (1) مواصفات البولى اثيلين العالى والواطئ الكثافه المستخدم في هذا البحث واستخدمت دقائق نبته العاقول كحشوات مضافه الى هذا البوليمر اذ تم جلب هذه النبته من ضواحي قضاء المدينه في محافظه البصره جنوب العراق إذ تم طحن هذه النبته بواسطة خلاط كهربائي مع استمرار عملية الطحن حتى الحصول على مسحوق والذي بدوره يتم معالجته بواسطة منخل (≤600 µm) . واضيف من خلال استخدام جهاز المازج الباثق الى بوليمر (HDPE) بالنسب 35% من وزن البوليمر حيث يكبس مزيج (HDPE,LDPE ودقائق العاقول) بواسطة مكبس ميكانيكي

جدول (1) الخواص العامة لبولي اثيلين عالي الكثافة المستخدم في البحث

Property	LDPE	HDPE
Trade Name	Scpilex (463)	Scpilex M624
Density (g/cm^3)	0.921-0.924	0.961
Melt Index (g/10min)	0.28-0.38	5-7

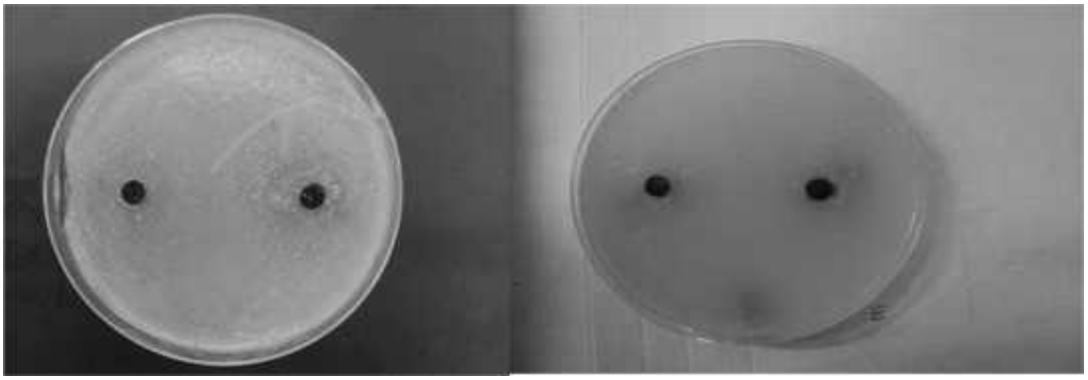
وتم اجراء القياسات الحيوية في مختبر الاحياء الدقيقة في كليه الطب البيطري في جامعه البصره وحضر وسط الاكار المغذي ومن ثم وزعت بواقع 20 ملم لكل طبق (استخدمت اطباق زجاجيه ذات قطر 90 ملم) اذ لقح الوسط بكميه مقدارها 01 ملم من العالق الجرثومي ذي الكثافة الضوئية 01 على طول موجه 420 نانومتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي من خلال استخدام ناشر زجاجي معقم اذ استخدمت خمسه انواع من البكتريا *Staphylcoccusaureas ,Streptocouuspyogenes, Escherichia coliPseudomonas.spp.,Klebsiallaspp,* اذ تم الحصول على المزارع البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغه كرام من مختبر الاحياء المجهريه في كليه الطب البيطري جامعه البصره وتم تأكيدها من خلال الاختبارات الحيويهالتشخيصيه gram stain test ,catalas test ,manitol test , urease test , H_2S test, citrate test coagulase test , indol test ,mthyl red ,. oxidase test وتركت بعدها الأطباق لمده خمسه عشر دقيقة الى نصف ساعة الى حين الجفاف وبعدها ثبتت اقراص بوليمر الاثيلين العالي الكثافة المطعم بدقائق نبات العاقول داخل هذه الاوساط البكتيرية (طريقة الانتشار بواسطه القرص disc diffusion method) اذ حضنت الاطباق لمده 24 ساعه وبدرجه جراره 37 مئوية وبعدها تم اخراج الاطباق من الحاضنة وتمت دراسة نمو البكتريا حول الاقراص مع ملاحظة التغير في كل من النمو البكتيري والتغير في طبيعة الوسط الزرعي والتغيرات الحاصلة في اوزان الاقراص المستخدمة

النتائج والمناقشة :

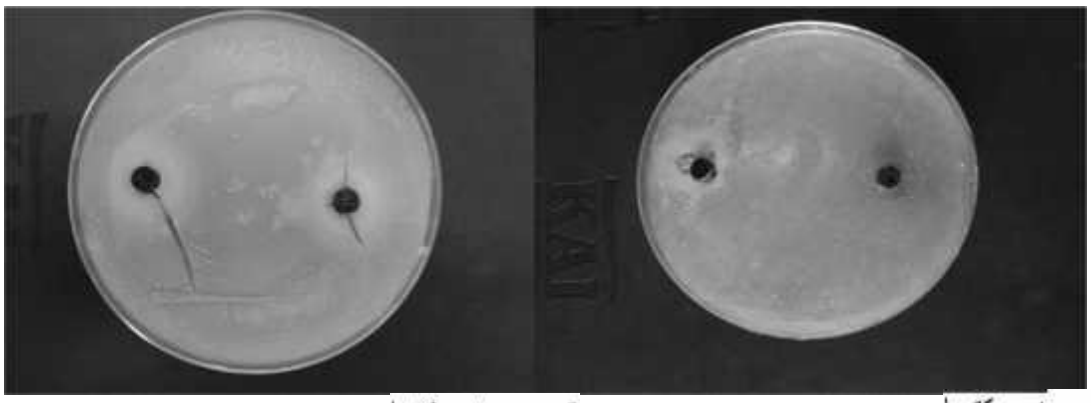
ان جزيئات الكاربون المكونة للسلاسل البوليمرية للاثيلين العالي الواطئ الكثافة تمثل مصدرا غذائيا للبكتريا على الرغم من كونه ليس مصدر الغذائي الوحيد بسبب وجود الوسط الغذائي المتمثل بالوسط الزرعي البكتيري إذ تعمل هذه البكتريا على فرز انزيمات هاضمه تعمل على تحلل السلاسل البوليمرية وتفكيكها الى مونمرات واستخدامها كمصدر غذائي بديل للوسط الغذائي [17-18] حيث شملت الدراسه النمو البكتيري لمعرفه طبيعة نمو البكتريا على اقراص البولي اثيلين العالي الكثافة المطعمة بشارة نبات العاقول حيث دللت النتائج المستحصلة إن هنالك نموا طبيعيا في كافه الاطباق المرجعيه (the control agar) ولبكتريا *Staphylcoccusaureas*, *Streptocouuspyogenes*, *Escherichia coliPseudomonas.spp.,Klebsiallaspp,* مع عدم ظهور أي منطقه تثبيط بكتيري حول هذه الاقراص

ويوضح الشكل (1) صور النمو البكتيري حول الاقراص البوليمريه بعد 24 ساعه حيث يمكن الملاحظه ان النمو كان اكثف حول اقراس البولي اثيلين الواطئ الكثافه (قرص LDPE يكون على يسار الصورة) ولجميع المستعمرات البكتيرية ويمكن تفسير السلوك هذا بالاعتماد على طبيعة سطح الاقراص البوليمريه وتواجد حفر او تشققات على هذه السطوح و مرونة القرص البوليمري ونوعيه السطح لهذه الاقراص إذ الالتصاق يكون اكبر مع السطوح الخشنة اكثر من السطوح الناعمة [19] وكذلك وجود الفراغات داخل الشبيكة البوليمريه او السلاسل الجانبيهوالتي تسبب انخفاضا في الكثافة بسبب تباعد السلاسل الرئيسه في البوليمر وهذه الفراغات تكون ملاذا لهذه التجمعات البكتيري [20-22] هذه الزيادة في النمو انما هي اشاره الى غياب أي فعاليه او اثر للتثبيط في النمو البكتيري ولجميع المستعمرات حول وتحت الاقراص البوليمريه مما يدلل على محدودية طريقه الانتشار بالقرص في دراسة تأثير نبات العاقول على النمو البكتيري ويمكن ان يفسر هذا الغياب لانعدام المجاميع القطبيه الفعالة في البوليمر ونتيجة التراصف العالي للسلاسل البوليمرية وترابطها القوي مصحوبا بالكثافة العالية تؤدي بدورها الى صعوبة كبيره جدا في تحرر دقائق نبته العاقول من المصفوفة الام لبوليمر الاثيلين العالي والواطئ الكثافة واحتباسها في الداخل مضافا الى الفقدان او التغير في تركيب وخصائص دقائق نبتة العاقول اثناء عمليه الكبس المصحوبة بدرجه حراره وضغط عاليين.

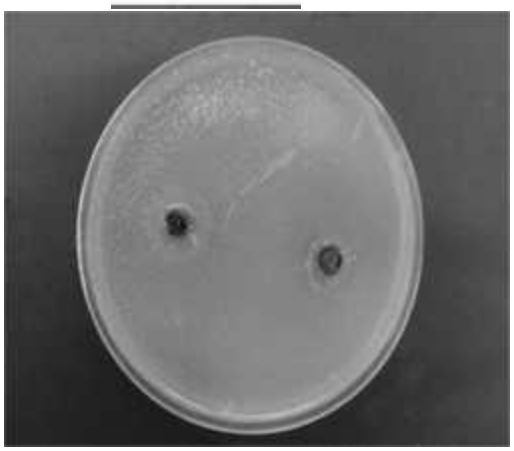
ويبين الجدول(2) التغير في اقطار المستعمرات البكتيرية حول الاقراص البوليميريه وخلال 24 ساعه وامتازت بكتريا *Streptococcus pyogenes* بظهور نمو كثيف حول الاقراص يصل قطره الى 1.7 سم و1 سم ولكل من اقراص بوليمر الاثيلين الواطئ والعالي الكثافة وعلى التوالي في حين اقتصر نمو *Klebciala spp.* على2.3 مليمتر و1.5 مليمتر على اقراص ذات الكثافه الواطئة والعالية وعلى التوالي وما بين هاتين القيمتين تراوح نمو الثلاث انواع الاخرى من البكتريا ومن الجدير بالذكر ان نمو *Staphylococcus aureus* كثيفا وبشكل داثري حول الاقراص و متصلا ما بين قرصي بوليمر الاثيلين العالي والواطئ الكثافة وممتدا بينهما بمسار منحني وكما هو موضح في الشكل(1) ومن الجدير بالذكر هنا ان طبيعة الاقراص البوليمريه المستخدمة تختلف قليلا بطبيعتها عن الاخرى وبالاعتماد على ان المنتج كان واحدا ونسب الخلط متساوية ودرجات الحرارة والضغط كان ذاته لكل الاقراص الا اننا نلاحظ ان هنالك اختلافا ملحوظا وكبيرا بين نمو واخر وهذا بدوره يعتمد على طبيعة البكتريا وعملياتها الايضية[17-18] وعلى العموم فان هذه النتيجة جد مهمه لإمكانيه التحلل الاحيائي لبوليمر الاثيلين عالي وواطئ الكثافة وهذا واضح من خلال التجمعات البكتيرية والتي بدورها تبحث عن مصدر بديل للكاربون الا وهو السلاسل البوليمريه الاثيلين والتي تمتاز بكبر وزنها الجزيئي وغناها بعنصر الكاربون مضافا الى ذلك طبيعة المضاف وما يمثله من مستودع للطاقه لهذه البكتريا متمثلا بالكاربوهيدراتوالراتبجات والسكريات ساعدت بشكل ملحوظ على هذا النمو الكثيف حول هذه الاقراص ومحفزا للتأكل الاحيائي لهذا البوليمرات التي تشكل في اغلب الاحيان وبعد استعمالها نفايات ذات اثر صحي وبيئي سلبي ويمكن تفسير هذا الاختلاف في قطر وطبيعة النمو على هذه الاقراص بالاعتماد على عده عوامل متغيره منها الشحنة الكهربائية السالبة لجدار البكتريا مصحوبا بتجاذبات معينه بين البكتريا والاقراص البوليميرية مثل الكهربائية الساكنة وقوه Lifshitz–Vander Waal, وكذلك طبيعة التفاعلات الكارهة والمحبة للماء (hydrophobic and hydrophilic interaction) وانواع اخرى من التفاعلات المحددة من نوع receptor–adhesin interactions [22].



نمو بكتريا *Escherchia coli* نمو بكتريا spp.*Klebsialla*



نمو بكتريا *Staphylococcus aureus* نمو بكتريا *Streptocouuspyogenes*



نمو بكتريا *Pseudomonas* aeroginosa

شكل (1) صور النمو البكتيري بعد 24 ساعة

الجدول (2) قطر النمو البكتيري كداله لنسبه المضاف من نشاره نبات العاقول

البكتريا	قطر النمو على اقراص HDPE ملم	قطر النمو على اقراص LDPE ملم
Pseudomonas **aerogenosa**	2	4.3
Staphylococcus aureus	3	10
Streptocouuspyogenes	10	17
Escherchia coli	1	2,3
Klebsialla spp.	3	3,6

الاستنتاج:

من النتائج المستحصلة يمكننا الاستنتاج ان النمو البكتيري على اقراص بوليمر الاثيلين العالي والواطئ الكثافة يعتمد على عده عوامل منها طبيعة البوليمر ودرجه تشابكه ونفوذيته اضافه الى ما يحتويه من مضافات عضويه حيث لم تظهر لمتراكبات (بوليمر الاثيلين عالي الكثافة –نشاره نبات العاقول) أي فعاليه ضديد بكتيرية على خمسه انواع من البكتريا المستخدمه في هذا البحث وان للمضاف تأثيرا ايجابيا في انتاج بوليمر اثيلين عالي وواطئ الكثافة ذو قابليه تحلل مما يجعله ماده صديقه للبيئة ورخيصة الثمن بسبب استبدال جزء من هذا البوليمر بمضافات محليه رخيصة جدا وان طريقه الانتشار بواسطه القرص (Disc diffusion method) طريقه غير فعاله في تحديد فعاليه نشاره نبتة العاقول كمضاد بكتيري وايضا يختلف التأثير من نوع الى اخر من انواع البكتريا وان هذا الاختلاف ناجم عن عده متغيرات اصلها هو القوى الكهربائية وطبيعة التفاعلات بين الشحنه الكهربائية السالبة لجدار البكتريا وبين ما يحتويه البوليمر والمضاف من مجاميع فعاله حاويه على مجاميع قطبيه وغير قطبيه

المصادر:

1- كوركيس عبد آل آدم / وحسين علي كاشف الغطاء (تكنولوجيا كيمياء البوليمر)، اصدارات *جامعة البصرة (1983) ص 643.*

2- Herman V.Boenig, "Polyolefins: Structure and properties", Elsevier Puplishing Company, N.Y. , (1966).

3- Hans-Georg Elias, "Macromolecules, Synthesis and Mterials", V.2, Plenum Press, N.Y., (1977).

4- M. Kazayawoko, J.J. Balatineaz and L.M. Matuana, J.of Materials Sci., 34, 6189-6199 (1999).

5- K.S. Whitley, T.S. Gates, J. A. Hinkley and L.M. Nicholson. NASA, Langley Res. Cen. Hampton, Virginia, 23681, 2199 (2000).

6-WaelA.AbdulGhaphor, NadhimA.Abdullah ,Abdullah.K. Mohamed and Abdullah A. Hussein. Mechanical properties of low densitypolyethylene wood sawducomposite.Ib.Alhaitham Journal of science and technology vol.1 no.1 sep.(2005) pp.41-44.

7- E M Hetrick and M H Schoenfisch, Chem. Soc. Rev., 2006 DOI: 10.1039/b515219b

8- N Kawabata and M Nishiguchi , Appl Environ Microbiol. 1988 October; 54(10): 2532–2535.

9-Bekir Dizman,† Mohamed O. Elasri,‡ and Lon J. Mathias ,Macromolecules, 39 (17), 5738 -5746, 2006.

10- Klebe RJ, Harriss JV, Sharp ZD, Douglas MG , Gene. 1983 Nov;25(2-3):333-41.

11- Desai NP, Hossainy SF, Hubbell JA. Biomaterials. 1992;13(7):417-20.

12-M.Kawai F., Shimada Y., Yokota, A., SYST. APPL.MICROBIOL. ,Vol. 16, no. 2, pp. 227-238. 1993.

13- D F Dwyer and J M Tiedje , Appl Environ Microbiol. 1986 October; 52(4): 852–856.

14 - B Schink and M Stieb, Appl Environ Microbiol. 1983 June; 45(6): 1905–1913.

19-panuwat Suppakul, KeesSonneveld , Stephen W. Brgger and Joseph Miltz ,(2008) ,LWT 41:779-788.

20- Pierre R. Roberge ," Handbook of corrosion ",McGraw-Hill,N.Y., 1999 , p-189-206.

21-S. Guan and h. Kennedy ,"A performance Evaluation of for Municipal pipe " , NACE International / Corrosion و 96, Paper no. 482 , Houston , 1996.

22-Hermansson, ,The DLVO theory in microbial adhesion.Colloids Surf B 14, M.(1999). 105–119.

15- T. M. Aminabhavi' R. H. Balundgi' P. E. Cassidy , Polymer-Plastics Technology and Engineering, Volume 29, Issue 3 June 1990 , pages 235 – 262.

16- M.J. Straiana, "Hot Melt Adhesive : Manu factore and Application Noyes Data Corporation, N.Y. (1974).

17- K.E. Gonsalves, S.H. Patel and X. Chen, *New Polymeric Materials*, 1990, 2, 2, 175.

18- K.E. Gonsalves, S.H. Patel and X. Chen, *Journal of Applied Polymer Science*,1991, 43, 2, 405.

The study of bacterial growth on highand low-density polyethylene modified with *AlhagiGraecorum*

Receved :30/6/2013 **Accepted :26/1/2015**

Hamed A. Hamdi

Basrah university ,college of EducationQurana, Biologydepartment

Email: hamymham@yahoo.com

Abstract:

In the present study, high and low density polyethylene with 35% of polyethylene weight contents of *AlhagiGraecorum*films were investigated for their resistance to bacterial adhesion. All tested bacteriawere brought from the microbiology laboratory in college of Veterinary in Basrah University and diagnostic .

The disc diffusion method was employed for this purpose. Bacterial growth on both high-density and low-density polyethylene– *AlhagiGraecorum*composite were reported. We compared initial adhesion and surface growth of *staphylococcus aureus , streptococcus pyogens, pseudomonas spp., aerugenosa, eschrishia coli and klebciala spp.* A 5 mm polymer composites disc were inoculated in the 9 cm Petri dish for 24 hours and the zone of inhibition and bacterial growing were observed and recorded. After 24 hours the bacterial growing of tested bacteria were distributed all over the control agarwith surface growth on the polymeric composites films. A dense growth with much bacterial adhesion on the surface of polyethylene-*AlhagiGraecorum*discs.According to the nature of high density polyethylene surface, density ,diffuse biodegradability we found that the bacterial adhesion to LDPE is much than that of HDPE. It was found that the *AlhagiGraecorum*content have no clear inhibition against tested bacteria where this might be due to a limitation of the agar disc diffusion method. All obtained results of bacterial growth were explained in term of physico-chemical properties of the microbial and biomaterial surfaces (*AlhagiGraecorum* in this case which comes from plant sources and in term of the cell wall of bacteria which is having negative electrical charge and the interaction between bacteria and other material depend on specific interactions, such as electrostatic and Lifshitz–Vander Waals forces, hydrophobic interactions and a variety of specific receptor–adhesin interactions .The differences in bacterial growing radius was obvious were the (1-17) range in millimeter was obtained for both Escherchia coliو and Streptocouuspyogenes respectively. Finally our product can be consider friendly environmental material due to it's biodegradability specially when buried in soil

Keywords: polyethylene, Hi density, *AlhagiGraecorum*, Disc diffusion , bacteria , polymer