عزل مركب نشط حيويا من بكتيريا السريتيا مرسيسنس

إعداد : عيسى عودة عايد البلوي

إشراف

ا.د. يسري محمد احمد سليمان

د. عثمان ابوبكر باعثمان

قدمت هذه الرسالة استكمالا لمتطلبات الحصول على درجة الماجستير في الكيمياء الحيوية

كلية العلوم

قسم الكيمياء الحيوية

جامعة الملك عبدالعزيز

جدة – المملكة العربية السعودية

١٤٤٠هـ - ٢٠١٩م

المستخلص العربي

بكتيريا السيريتيا ميرسيسنس هي بكتيريا سالبة لصبغة جرام، عصوية الشكل، معظمها تكون بشكل منفرد، تم عزلها من سوسة النخيل المصابة بالفطريات الممرضة (بوفوريا باسيانا). حيث وجد ان السريتيا ميرسيسنس تنتج مركب نشط حيويا يسمى بروديجيوزين. الغرض من هذا البحث هو تحسين انتاج البروديجيوزين من بكتيريا السريتيا ميرسيسنس. وبدراسة العوامل المساعدة على زيادة البروديجيوزين وجد ان مسحوق الفول السوداني والببتون كمصارد الكربون والنيتروجين الأمثل لانتاج مركب البروديجيوزين، مما أسفر عن زيادة تركيز البروديجيوزين في مستخلص البيئة (supernatant) ١٥٨١ مل مول و٥٨٦ مل مول في حطام الخلايا. لتعزيز إنتاج البروديجيوزين كما وجد ان درجة الحرارة المثلى هي ٢٨درجة مئوية، وكان الرقم الهيدروجيني الأمثل ٧، وأن ٥٠ مل هو الحجم الأمثل من البيئة لإنتاج البروديجيوزين. كما لوحظ أن وقت الحضانة الأمثل هو ٧٢ ساعة. تم تنقية البروديجيوزين الناتج بواسطة تقنية السليكا جل كروماتوجرافيا. ثم تم التأكد من نقاء العينة المستخلصة بواسطة تقنية كروماتوجرافيا رقائق السيلكا (TLC) حيث انها أعطت مركب البروديجيوزين نقي وذلك بتقنية الاشعة البنفسجية. بمعاملة محلول ميثانولي من البروديجيوزين بالحامض والقلوي ثم مسحها في جهاز قياس الطيف الضوئي بالأشعة المرئية والفوق البنفسجية اعطى البروديجيوزين الحامضي اقصى امتصاص عند ٥٣٧ نانومتر، بينما البروديجيوزين القلوي كان اقصى امتصاص له عند ٤٦٨ نانومتر. كشف مقياس الطيف الكتلي أن الوزن الجزيئي للبروديجيوزين هو ٣٢٤ دالتون. لوحظ ان للبروديجيوزين نشاط كمضاد اكسدة وبحساب IC50 وجد انها ٠,١٩ مايكرو جرام / مل من البروديجيوزين. البروديجيوزين النقى له خصائص مضادة للبكتيريا الموجبة لصبغة جرام مثل *انتيروكوكس فيكاليس وستافيلوكوكس اوريوس وباسيلّس سبتليس وأيضا* البكتيريا السالبة لصبغة جرام مثل *الإشريشيا كولاي وكلبسيلا نومونيا وبروتياس ميرابلس وسيدومونس ايروجينوسا* والخمائر مثل *سكرمايسيس سرفيسيا وكنديدا ألبيكنس.*

Isolation of a bioactive compound from *Serratia marcescens* bacteria

By

Eisa Odah Aid Alblwi

A Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Biochemistry

Supervised By

Prof. Dr. Youssri M. Ahmed Soliman

And

Dr. Othman A. Baothman

Department of Biochemistry

Faculty of Science

King Abdul Aziz University

Jeddah – Saudi Arabia

1440H - 2019G

ABSTRACT

Gram negative, short rods, mostly single forms *Serratia marcescens* was isolated from Red Palm Weevil (Rhynchophorus ferrugineus) infected by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana. Serratia marcescens* was found to produce the bio-active prodigiosin. This work seeks to optimize prodigiosin production *Serratia marcescens.* Peanut powder and peptone were identified as the optimized carbon and nitrogen sources for the production of prodigiosin, yielding a prodigiosin concentration in the supernatant (1581mM) and 586 mM in cells debris. To enhance prodigiosin production even further experimental design methodology was utilized to optimize the environmental condition as temperature which was observed at 28°C. Optimum pH was 7, agitation allows the oxygen to dissolve in the medium it was observed that 50 ml medium is optimum volume for prodigiosin production. It was observed that the optimize of incubation time was 72 h maximum level of prodigiosin. Crude extract of pigment was further purified by silica gel column chromatography. One spot was detected by thin layer chromatography was identified as prodigiosin. The acid and alkali prodigiosin were exposed ultraviolet-visible scan. The acid prodigiosin gave maximum absorption at 537 nm and the maximum absorption in alkaline was 468 nm. Mass spectrometry revealed a molecular weight of prodigiosin is 324 Da. By detection the antioxidant activity, it was found A reduction of 50% of the absorbance (IC50) was achieved at 0.19 μg /ml concentration of prodigiosin pigment extract. Purified pigment had antimicrobial properties against Gram-positive bacteria *E.faecalisis, S.aureus, B.subtilis,* Gram-negative bacteria *E.coli, K.pneumoniae, P.mirabilis, P.aeruginosa* and yeast *S.cerevisiae, Candida albicans.*