# فاعلية نوعي بكتريا حامض اللاكتيك *Lactobacillus casei* و *Lb. acidophilus* في بعض المعايير الحيوية للجرذان المعرضة لـ Bisphenol-A

**محمد جميل محمد[1] وكركز محمد ثلج وامين سليمان بدوي**
قسم علوم الاغذية / كلية الزراعة / جامعة تكريت

## الخلاصـــة

اجريت الدراسة بهدف تحديد تركيز مادة Bisphenol-A في بعض عينات أنواع اللحوم المعلبة في الأسواق العراقية، وبيان تاثير الاعطاء الفموي منها بالتركيزين 5 و 10 ميكروغرام/ كغم مع ماء الشرب في معايير النمو والمعايير الحيوية في الجرذان المختبرية بعد مدة 21 يوما. بيّنت النتائج وجود Bisphenol A في عينات لحم الدجاج أريزان بتركيز 1.04 ميكروغرام/ كغم وفي اللحم البقري التغذية بتركيز 2.52 ميكروغرام/ كغم وفي لحم السمك علامة Founty بتركيز 4.65 ميكروغرام/ كغم. وفي حالة الاعطاء مع ماء الشرب منه فانه سبب في الإنخفاض المعنوي عند ($P<0.05$) في الوزن المكتسب لمجاميع الجرذان المعطاة فمويا من Bisphenol A ، كما ان زيادة التركيز منه سبب في زيادة الإنخفاض في الوزن المكتسب. ولم تتاثر معنويا قيم البروتين الكلي والألبومين. وقد ارتفعت معنويا قيم كل من الكلوبيولين وحامض اليوريك و الكرياتنين واليوريا مع زيادة تركيز Bisphenol A . كذلك حصل إرتفاع معنوي في فعالية جميع قيم الإنزيمات ALT ، AST ALP ولكل مجاميع المعاملات. كما سبب ارتفاع التركيز من البسفينول في الإنخفاض المعنوي لأعداد بكتريا حامض اللاكتيك في الأمعاء وقابلها إرتفاع معنوي في أعداد البكتريا المرضية. كان لأضافة نوعي بكتريا حامض اللاكتيك *Lb. casei* و *Lb. acidophilus* مع ماء الشرب وبوجود Bisphenol A بتركيز 5 و 10 ميكروغرام/ كغم معها تاثيرا معنويا في خفض التأثير السلبي لمادة Bisphenol A في الوزن والمعايير الكيموحيوية والأنزيمية وخفض أعداد البكتريا المرضية وزيادة أعداد بكتريا حامض اللاكتيك في الامعاء.

**الكلمات المفتاحية:**
Bisphenol-A ، بكتريا حامض اللاكتيك، المعايير الكيموحيوية والأنزيمية

**للمراسلة :**
**محمد جميل محمد**
قسم علوم الاغذية ، كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، العراق
**البريد الالكتروني :**
m_jamel68@yahoo.com

# The Effectiveness of Two Species of Lactic Acid Bacteria *Lactobacillus casei* and *Lb. acidophilus* in Some Biological Parameters of Rats Exposed to the Bisphenol-A

**Mohammed J. Mohammed , Karkaz M. Thalij and Amin S. Badawy**
Food Science Department, College of Agriculture, Tikrit University, Tikrit, IRAQ.

## ABSTRACT

The study was conducted in order to determine the concentration of Bisphenol-A in some samples of canned meats in Iraqi markets and the effect of oral administration with 5 and 10 µg/kg from Bisphenol A with drinking water on growth and biochemical parameters in laboratory rats after 21 days.

The results showed the presence of Bisphenol A in samples of chicken meat Arizan at 1.04 µg/kg, in beef marked Nutrition at 2.52 µg/kg, and in fish meat marked Founty at 4.65 µg/kg. while when adding the Bisphenol A at 5 and 10 µg/kg with drinking water caused in significant reduction ($P<0.05$) in the body weight of animals with increasing the concentration of those Bisphenol A. While the values total protein and albumin were not affected by the increased from this material. The values of the globulin, uric acid, creatinine and urea, further the activity of each enzyme ALP, ALT and AST were significantly increased with increased of Bisphenol A concentrations, It also found that the addition of Bisphenol A led to increased the total counts of pathogenic bacteria and decreased the total counts of lactic acid bacteria in animals intestinal.

The addition of two types of lactic acid bacteria *Lb. casei* and *Lb.*

**Key words:**
Bisphenol A, Lactic acid bacteria, Biochemical and Enzymes parameters.

**Correspondence:**
**M.J. Mohammed**
Food Science Department, College of Agriculture, Tikrit University, Tikrit, IRAQ.
**E-mail:**
m_jamel68@yahoo.com

[1] البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول

*acidophilus* led to decreasing the negative effect of Bisphenol A on the values of all the parameters determined.

**المقدمة :**

يعد Bisphenol A بأنه مادة كمياوية بشكل متعدد الكاربون أو راتنجات الإيبوكسي وهي قطع إستروجينية شائعة الإستعمال في صناعة منتجات إستهلاكية عديدة كحاويات الأطعمة والمشروبات (Magdalena وآخرون، 2012).

تستعمل لدائن الكاربونات المتعددة في مصانع الأقراص المضغوطة والأدوات المنزلية وتعليب الأغذية ( Formme وآخرون، 2012). وإن الحد المسموح به من مادة BPA في الطعام هي عند 0.6 مايكروغرام/ كغم حسب توجيهات ال EC .ان الحد الأعلى للجرعة المسموح بها للتناول اليومي من BPA كما موصى به من قبل وكالة حماية البيئة الأمريكية وسلطات سلامة الغذاء الأوربية من BPA هي في حدود 50 مايكروغرام/ كغم من وزن الجسم في اليوم الواحد ، بينما أقرت الصحة الكندية المستوى عند 25 مايكروغرام /كغم من وزن الجسم /يوم. وقد وجدوا Schecter وآخرون، (2010) ان عينات الاغذية المجموعة من مدينتي دالاس وتكساس في الولايات المتحدة الأميركية قد احتوت من مادة البسفينول بين 0.23– 65 مايكروغرام/ كغم. اما اعلى تركيز منها فقد كان في عينات سمك التونا التي كان عند 32.55 ميكروغرام/ كغم (Rastkari وآخرون، 2013). كما ذكر Gurmeet وآخرون، (2014) حصول إنخفاض في وزن الجرذان مع كل المعاملات من التراكيز المستعملة من BPA. وذكر Mourad و Khadrawy، (2012) حصول إرتفاع في مستوى إنزيمات الكبد لكل من ALT و AST وزيادة تركيز حامض اليوريك عند تغذية الجرذان على عليقة تحتوي 25 و 10 ملغم/ كغم/ يوم.

تتميز بكتريا حامض اللاكتيك التي تمتلك صفات في انها من المعززات الحيوية بأن لها القدرة على مقاومة الحموضة وأملاح الصفراء وقابليتها على الإلتصاق بالأغشية المخاطية للأمعاء، وكذلك مقدرتها على الإستيطان في القناة الهضمية للإنسان ( Ouwehand وآخرون، 1999). وذكر Pendone وآخرون، (2000) إن لبكتريا *Lb. casei* مقدرة على تقليل حالات الإسهال الحاد لدى الأطفال، وحفظ التوازن المايكروبي للأمعاء ومنع الإضطرابات المعوية. كما وجد كل من Goldin وآخرون، (1992) إن لهذه الأنواع من الأحياء تأثيرات ملحوظة في الأيض المايكروبي في القولون عن طريق تقليل فعالية إنزيمي (ß-glucouronidase و Nitroreductase) اللذين لهما علاقة بتكوين وإطلاق المركبات السامة والمسرطنة في القولون. من جانب آخر أشار Carr وآخرون، (2002) إلى قدرة هذه الأحياء المجهرية على تثبيط نمو طيف واسع من البكتريا المرضية، ولها تأثير في زيادة إنتاج الكلوبيولينات المناعية IgA التي تؤدي دوراً مهماً في الإستجابة المناعية للأغشية المخاطية.

**مواد وطرائق البحث :**

**جمع العينات :**

شملت عينات اللحوم المعلبة علامات تجارية مثلت أكثر من عشرة مناشئ مختلفة محلية وعربية وأجنبية بواقع عشرة مكررات لكل علامة، تضمنت الأكثر انتشاراً في الأسواق المحلية والمرغوبة من قبل المستهلكين. حفظت في درجة حرارة الغرفة (25±2 °م) في المختبر لمدة يومين لحين تقدير التراكيز وعينات اللحوم المعلبة عددها 15 عينة. تم مراعاة أن تكون العلب سليمة من الأضرار ولم يحصل لها الإنتفاخ وكذلك مثبت عليها العلامة التجارية المذكور فيها تاريخ الإنتاج والنفاذ وتعريفه بالمحتويات وكما ورد في (APHA، 1998).

**تقدير Bisphenol A في اللحوم المعلبة :**

تم إتباع الطريقة المتبعة من قبل (Szymański وآخرون، 2006 : Dagmar و Margit، 2007) حيث وزن 10 غم من كل عينة من اللحوم المعلبة ونقلت إلى أنبوبة طرد مركزي حجم 50 مل حيث أضيف إليها 10 مل من الأسيتونترايل و10

مل من الهكسان، وخلطت جيداً لمدة 90 ثانية، بعدها أجري لها الطرد المركزي عند سرعة 2800 دورة لمدة 20 دقيقة بإستخدام جهاز الطرد المركزي نوع Kokusan (ياباني المنشأ). أخذت طبقة الأسيتونترايل إلى أنبوبة إختبار، وأعيدت العملية بإضافة 10 مل أسيتونترايل وجمعت الكميتين ورشحت بإستخدام ورق الترشيح Whatman رقم 1 وبخرت الراشح إلى حوالي 2مل وخلطت مع الماء بنسبة 1 : 10 ورشحت مرة أخرى بإستخدام عمود(Sol gel) وأستعمل الراشح المتحصل عليه في تقدير المادة. ولتقدير البسفينول تم حقن 20 مايكروليتر من الراشح في جهاز HPLC نوع Perkin Elmer series 200 UV Vis. أمريكي المنشأ، وبإستخدام عمود فصل نوع C 18 والطور المتحرك بنسبة(60:40) ومعدل جريان 1 مل / دقيقة وطول موجي عند 260 نانوميتر. تم الحصول على تراكيز Bisphenol A من خلال القراءات المتحصل عليها بشكل قمم التي تم تحويلها إلى تراكيز.

**تهيئة الحيوانات المختبرية :**

تم الحصول على الحيوانات المختبرية من كلية الطب البيطري / جامعة الموصل وهي إناث جرذان Female Rats من النوع Albino Sprague- Dawleyweanling بالغة، قسمت الحيوانات البالغة عددها 72 حيوان عشوائياً إلى 9 مجاميع كل مجموعة 8 حيوانات والتي تضمنت الآتي :-

1) مجموعة السيطرة **2)** مجموعة الحيوانات المعطاة بكتريا *Lb. casei* **3)** مجموعة الحيوانات المعطاة بكتريا *Lb. acidopillus* 4) مجموعة الحيوانات المعطاة Bisphenol A بتركيز 5 ملغم / كغم 5) مجموعة الحيوانات المعطاة Bisphenol A بتركيز 10 ملغم / كغم **6)** مجموعة الحيوانات المعطاة Bisphenol A بتركيز 5 ملغم/ كغم + بكتريا *Lb. acidopillus* **7)** مجموعة الحيوانات المعطاة Bisphenol A بتركيز 10 ملغم/ كغم + بكتريا *Lb. casei* **8)** مجموعة الحيوانات المعطاة Bisphenol A بتركيز 5 ملغم/ كغم + بكتريا *Lb. casei* **9)** مجموعة الحيوانات المعطاة Bisphenol A بتركيز 10 ملغم/ كغم + بكتريا *Lb. acidopillus* حيوان/ يوم.

تم إعطاء الحيوانات المواد المدروسة بعد خلطها مع الماء المعقم (Rantala,1974 ) وبعد إذابتها بالتراكيز المشار إليها في المجاميع أعلاه. تم إضافة معلق بكتريا حامض اللاكتيك بنوعيها *Lb. casei* و *Lb. acidophillus* مع الماء وبأعداد عند $1.5 \times 10^{8}$ / مل من وسط الحليب الفرز. وتم أخذ الوزن الإبتدائي بعد يوم من تغذية الحيوانات إنفراديا وكانت درجة الحرارة عند 20 – 25 °م ومدة الإضاءة لا تقل عن 12 ساعة في اليوم ، وكان تقديم الغذاء الذي تم إعداده إعتماداً على ماجاء في (NAC-NRS، 2002) خلال مدة التجربة التي استمرت لمدة 21 يوماً.

**فحوصات الدم :**

**فحوصات الدم الكيموحيوية (Blood Biochemical Assay) :**

إستخدمت طواقم محاليل قياسية (Kits) مجهزة من شركة BIOLABO (فرنسا) لقياس البروتين الكلي Total Protein(غم/ ديسلتر) والألبومين Albumin (غم/ ديسلتر)، بينما تم قياس اليوريا Urea (ملغم/ ديسلتر) وحامض اليوريك (ملغم/ ديسلتر) والكرياتنين (ملغم/ ديسلتر) بإستخدام طواقم محاليل قياسية مجهزة من قبل شركة Biomaghreb (تونس)، وأجريت التحاليل بواسطة المطياف الضوئي Spectrophotometer وفق تعليمات الشركات المجهزة لكل طاقم كما ذكر في (Titiz، 2005).

**تقدير فعالية الإنزيمات :**

قدرت فعالية الإنزيمات التي شملت كلاً من Alanine amino transferase (ALT) و Aspartate amino (AST) transferase بإستخدام طواقم قياسية مجهزة من شركة RANDOX (بريطانيا)، أما تقدير فعالية إنزيم Alkaline phosphatase (ALP) فقد تم بإستخدام طواقم قياسية مجهزة من شركة ROCHE (ألمانيا) وتمت قراءة النتائج بإستخدام جهاز Reflotron وفق تعليمات الشركات المجهزة لها كما ذكر في (Titiz، 2005).

**تقدير العدد الكلي الأحياء المجهرية :**

**تقدير العدد الكلي لبكتريا القولون في الأمعاء :**

جمع 10 غم من أمعاء الحيوانات وتم حفظها بإستخدام المحلول الملحي الفسيولوجي بحجم 90 مل وأجريت التخافيف اللازمة لغاية التخفيف السابع وسحب 0.1 مل من التخفيف الاخير ونشر على وسط MacConkey Agar و Eosin Methylene blue وحضنت الأطباق مقلوبة عند 37 °م لمدة 24 ساعة بعدها عدت المستعمرات على الطبق لكل عينة (Harriganو MacCance، 1976).

**تقدير العدد الكلي لبكتريا حامض اللاكتيك :**

من التخفيف المعد في المحلول الفسيولوجي في الخطوة السابقة تم أخذ 0.1 مل ونشرت على سطح وسط MRS-$CaCO_3$ الصلب وحضنت لاهوائيا عند 35 °م لمدة 24–48 ساعة. بعدها حسبت أعداد المستعمرات ذات الشكل الكريمي والممتلكة للمناطق الرائقة حولها(Harrigan و MacCance، 1976).

**التحليل الإحصائي :**

حللت نتائج التجارب بإستخدام النموذج الخطي العام (Linear Model General ) ضمن البرنامج الإحصائي الجاهز (SAS، 2001) لدراسة تأثير العوامل على وفق التصميم العشوائي الكامل CRD كما أجري إختبار دنكن (Duncan، 1955) لتحديد معنوية الفروق مابين متوسطات العوامل المؤثرة على الصفات المدروسة عند مستوى (0.05).

**النتائج والمناقشة :**

**تركيز Bisphenol A في اللحوم المعلبة :**

بين الجدول 1 تركيز مادة Bisphenol A في عينات أنواع اللحوم المعلبة في الأسواق العراقية. تبين من النتائج إن تركيز مادة Bisphenol A قد تراوحت في عينات اللحم البقري المستورد بين 0.33 الى 2.52 ppb في عينات اللحم علامة Lovi و علامة التغذية على التوالي، وقد خلت العلامات التجارية Polo و Sara من التلوث بهذه المادة. أما في عينات لحم الدجاج فقد تراوح تركيز هذه المادة بين 0.42 الى 1.04 ppb في علامات دجاج الوادي وأريزان على التوالي، بينما خلى محتوى عينة لحم الدجاج علامة Al-Tagthia من التلوث بهذه المادة. كما كان التلوث في عينات لحوم الأسماك من هذه المادة بين 1.17 الى 4.65 ppb في كل من لحم السمك علامة OTHELO و Founty على التوالي.

**جدول:1 تركيز Bisphenol A في أنواع عينات اللحوم المعلبة**

| تركيز Bisphenol A (ppb) في عينات اللحوم المعلبة | | |
|---|---|---|
| نوع عينات اللحم | العلامة التجارية | تركيز Bisphenol A (ppb) |
| لحم بقري | التغذية | 2.52b |
| | موائدنا الشهية | 1.22c |
| | Great cow | 0.87cd |
| | Bordon | 0.66d |
| | Safacol | 0.52d |
| | Lovi | 0.33e |
| | Sara | - |
| | Polo | - |
| لحم دجاج | أريزان | 1.04c |
| | Lovi | 0.43e |
| | الوادي | 0.42e |
| | Al-Tagthia | - |
| لحم سمك | Founty | 4.65a |
| | 4 Mackerel | 1.20c |
| | OTHELO | 1.17c |

e-a: الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود إختلافات معنوية عند مستوى إحتمالية 0.05

اتفقت النتائج مع MHLW، (2010) حيث ذكروا تواجد Bisphenol A في جميع عينات الأغذية ووصلت الى 460 ميكروغرام/ كغم. كذلك اتفقت النتائج مع Rastkari، (2011) الذين وجدوا إن عينات لحوم أسماك التونا كانت الأكثر تلوثاً من عينات اللحوم المعلبة الأخرى وهي عند 32.55 ppb.

يمكن أن يرجع السبب في حصول التلوث لأنواع اللحوم المعلبة بمادة Bisphenol A إلى إمكانية انتقال هذه المادة من معدن العلبة (مادة الطلاء) إلى المادة الغذائية إذ أن BPA يدخل في صناعة المواد التي تكون بتماس مع الغذاء وبالتالي إمكانية إنتقالها أو هجرتها إلى الغذاء لاسيما في حالات استعمال التسخين عند 100 °م كما تعتمد عملية إنتقاله على محتويات العلبة نفسها وفترة الخزن، ودرجة الحرارة التي تعد لها تأثيرات في كمية الهجرة أو الانتقال، وتزداد عملية انتقال BPA من طلاء العلبة إلى محتويات العلبة خلال بعض مراحل أو خطوات التصنيع كالتعقيم (Luo وآخرون، 2009 : Brotons وآخرون، 1995) كما تبين إن عينات أنواع لحوم الأسماك كانت الأكثر تلوثاً من هذه المادة إذ يمكن أن يرجع ذلك إلى وجود المحتوى العالي من الدهن في لحوم الأسماك وبذلك فإن عملية انتقال BPA بشكل رئيسي في الأغذية المعلبة تعتمد على محتواها من الدهن (Hammarling وآخرون، 2000 : Munguia-Lopez و Soto-Vade ،2001).

**تأثير Bisphenol A في معايير النمو :**

يوضح الجدول 2. تأثير إضافة تركيزين عند 5 و 10 ملغم / كغم من مادة Bisphenol A لمدة 21 يوما في وزن الجسم. بيّنت النتائج حصول انخفاض معنوي عند ($P<0.05$) في الوزن المكتسب لمجاميع الجرذان المعطاة فمويا من Bisphenol A، إذ سببت زيادة التركيز في زيادة نسبة الانخفاض في الوزن المكتسب، حيث كان تأثير التركيز 10 ملغم / كغم الأكثر في انخفاض وزن الحيوانات وانخفض الوزن بمقدار 4.7 غم مقارنة مع مجموعة السيطرة التي كانت 36.4 غم.

كما بينت النتائج وجود ارتفاع معنوي ايجابي بين مجموعتي السيطرة المضاف لها بكتريا *Lb. casei* و *Lb. acidophilus* مقارنة مع مجموعة السيطرة. كما إن إضافة نوعي بكتريا حامض اللاكتيك سوية مع كل من تركيزي Bisphenol A قد سببت في الزيادة المعنوية في وزن الحيوانات لتكون في حالة بكتريا *Lb. casei* وللتركيزين 5 و 10 ملغم / كغم بزيادة مكتسبة عند 9.8 و 4.5 غم على التوالي ، وفي حالة *Lb. acidophilus* عند 10.2 و 5.2 غم على التوالي. اتفقت النتائج مع Gurmeet وآخرون، (2014) إذ وجدوا حصول انخفاض في وزن الجرذان في كل مجاميع الجرذان المغذاة على غذاء ملوث بمادة Bisphenol A.

**جدول 2 . تأثير تراكيز Bisphenol A في معايير النمو في إناث الجرذان بعد فترة 21 يوماً**

| المعاملات | التركيز ميكروغرام/كغم | الوزن الأبتدائي | الوزن النهائي | الزيادة الوزنية |
|---|---|---|---|---|
| | | غم | | |
| السيطرة | صفر | 155.54 | 191.94 | 36.4b |
| *Lb. casei* | 2مل/ حيوان/يوم | 144.30 | 185.5 | 41.5a |
| *Lb. acidophilus* | 2مل/ حيوان/يوم | 154.41 | 194.71 | 40.3a |
| Bisphenol A | 5 | 146.06 | 147.56 | 1.5e |
| | 10 | 140.28 | 135.58 | - 4.7f |
| Bisphenol A+ *Lb. casei* | 5 | 158.87 | 168.67 | 9.8c |
| | 10 | 152.27 | 156.77 | 4.5d |
| Bisphenol A+ *Lb. acidophilus* | 5 | 150.90 | 161.1 | 10.2c |
| | 10 | 153.99 | 158.2 | 5.2d |

e-a : الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود إختلافات معنوية عند مستوى إحتمالية 0.05

إن انخفاض وزن الجسم في الحيوانات المختبرية المغذاة على مركبات BPA يمكن أن يكون مرتبطاً مع سمية تلك المركبات حيث تؤثر على نمو الحيوانات (Akingbemi وآخرون، 2004). إن فاعلية بكتريا حامض اللاكتيك في تقليل التأثير السلبي تكون من خلال قدرتها على ربط مركبات BPA في المنطقة المعوية وبالتالي منع امتصاصها في الأمعاء وبذلك تخفض خطر التعرض لهذه المركبات ( Oishi وآخرون، 2008).

**تأثير Bisphenol A في المعايير الكيموحيوية :**

يوضح الجدول 3 تأثير إضافة Bisphenol A بالتركيزين 5 و 10 ملغم / كغم مع ماء الشرب في المعايير الكيموحيوية لإناث الجرذان، بينت النتائج إن قيم البروتين الكلي لم تتأثر معنويا عند ($P<0.05$) ولكلا التركيزين 5 و 10 ميكروغرام / كغم من Bisphenol A ، إذ كانت قيمها عند 6.92 و 7.43 غم/ ديسيلتر على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة التي كانت عند 6.52 غم/ ديسيلتر، ولم يحصل أي إختلاف معنوي في قيم البروتين الكلي عند إضافة نوعي بكتريا حامض اللاكتيك *Lb. casei* و *Lb. acidophilus* مع Bisphenol A.

كما تبين إن قيم الألبومين لم تتأثر معنويا. أما قيم الكلوبيولين فقد ارتفعت معنويا عند إضافة Bisphenol A بتركيزيه 5 و 10 ميكروغرام / كغم فأصبحت عند 3.3 و 4.1 غم / ديسيلتر على التوالي. وانخفضت معنوياً قيم الكلوبيولين عند إضافة Bisphenol A مع إضافة بكتريا حامض اللاكتيك بنوعيها *Lb. casei* و *Lb. acidophilus* مقارنة مع إضافة Bisphenol A لوحده. كذلك ارتفعت معنويا قيم حامض اليوريك عند إضافة Bisphenol A حيث بلغت عند 2.35 و 2.71 ملغم/ ديسيلتر على التوالي مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة التي كانت عند 2.02 ملغم / ديسيلتر. وكان هناك تأثير معنوي لبكتريا حامض اللاكتيك بنوعيها في خفض تأثير Bisphenol A عند التركيزين أعلاه على قيم حامض اليوريك حيث بينت النتائج حصول ارتفاع معنوي في قيم حامض اليوريك فبلغت (2.30 و 2.45) (2.31 و 2.44) ملغم/ ديسيلتر على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة.

**جدول 3. تأثير تراكيز Bisphenol A في بعض المعايير الكيموحيوية في إناث الجرذان بعد فترة 21 يوماً.**

| Urea mg/l | Criatenin mg/l | Uric acid mg/l | Glob g/l | Alb g/l | TP g/l | التركيز ملغم/كغم | المعاملات |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 24c | 0.71b | 2.02c | 2.8d | 3.72a | 6.52a | **0** | **السيطرة** |
| 21d | 0.43b | 1.94c | 2.91cd | 3.75a | 6.66a | **2مل/حيوان /يوم** | **السيطرة + *Lb. casei*** |
| 22d | 0.45b | 1.93c | 2.89d | 3.74a | 6.63a | **2 مل/حيوان /يوم** | **السيطرة + *Lb. acidophilus*** |
| 27b | 1.30a | 2.35b | 3.35b | 3.57a | 6.92a | **5** | **Bisphenol A** |
| 30a | 1.68a | 2.71a | 4.11a | 3.32a | 7.43a | **10** | |
| 25c | 1.12a | 2.30b | 3.09c | 3.67a | 6.76a | **5** | **Bisphenol A+ *Lb. casei*** |
| 28b | 1.44a | 2.45b | 3.64b | 3.41a | 7.05a | **10** | |
| 26c | 1.15a | 2.31b | 3.05c | 3.70a | 6.75a | **5** | **Bisphenol A+ *Lb. acidophilus*** |
| 28b | 1.47a | 2.44b | 3.76d | 3.42a | 7.18a | **10** | |

a-e : الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود إختلافات معنوية عند مستوى إحتمالية 0.05

TP = Total Protien : Alb = Albumine : Glob = Globuline

كذلك بينت النتائج ارتفاع قيم الكرياتنين معنويا عند إضافة Bisphenol A حيث بلغت قيم الكرياتنين عند 1,30 و 1.68 ملغم/ ديسيلتر في حالة مجموعة الحيوانات المعطاة تركيزي Bisphenol A على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة التي كانت 0.71 ملغم / ديسيلتر. كما حصل انخفاض معنوي في قيم الكرياتنين عند إضافة بكتريا حامض اللاكتيك بنوعيها مع التركيزين من Bisphenol A مقارنة مع مجموعة السيطرة. كما تبين ارتفاع قيم اليوريا معنويا مع زيادة تركيز Bisphenol A من 25 إلى 50 ميكروغرام / كغم حيث كانت 27 و 30 ملغم / ديسيلتر على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة التي كانت عند 24 ملغم / ديسيلتر. وانخفاض معنوي في قيم اليوريا في مجموعتي السيطرة المضاف إليها بكتريا حامض اللاكتيك بنوعيها *Lb. casei* و *Lb. acidophilus* حيث بلغت عند 21 و 22 ملغم / ديسيلتر على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة. كما حصل تأثير معنوي لبكتريا حامض اللاكتيك بنوعيها في خفض تأثير Bisphenol A ولكلا التركيزين على قيم اليوريا مقارنة مع مجموعة السيطرة.

اتفقت النتائج مع ماذكره Mourad و Khadrawy، (2012) اللذان وجدا ارتفاع مستوى حامض اليوريك عند تغذية الجرذان على عليقة تحتوي على 5 و 10 ملغم / كغم / يوم مقارنة مع مجموعة السيطرة. كذلك مع ما ذكره Kumer وآخرون، (1988) إن الأعطاء الفموي من BPA لمدة 30 يوماً تسبب في ارتفاع قيم الكرياتنين في بلازما الحيوانات وأن هذا الارتفاع يمكن أن يعود إلى سمية BPA والتي سببت في خفض قابلية الكلية على التخلص من سمية هذه المادة عن طريق التمثيل الغذائي. وإن زيادة هدم البروتين وسحب مجموعة الأمين من الأحماض الأمينية تفسر ارتفاع مستوى اليوريا وإن هذه المركبات السامة تزيد من يوريا الدم (Varely، 1987). إن زيادة حامض اليوريك يمكن أن يكون ناتجاً بصورة رئيسية عن تحطم البيورينات أو عدم قدرة الكلية على إفرازه، وارتفاع الكرياتنين في مصل الدم يرتبط مع الترشيح غير الطبيعي للجزيئات من قبل الكلية ( Bansal وآخرون، 2005).

إن قدرة أنواع بكتريا حامض اللاكتيك في تقليل التأثير السلبي لتعرض الحيوانات إلى مركب BPA تكون من خلال قدرتها على ربط تلك المركبات وإزالتها من الأمعاء (Endo وآخرون، 2000). إن إزالة تلك المواد تكون في تقليل امتصاصها من قبل الأمعاء مع إمكانية حجب إرتباطها مع زغابات الأمعاء فتؤدي إلى تقليل امتصاصها وبالتالي خفض تأثيرها السام ( Hussein و Eid، 2013).

**تأثير Bisphenol A في المعايير الإنزيمية :**

إن تأثير Bisphenol A بتركيز 5 و10 ميكروغرام / كغم على فعالية الإنزيمات في إناث الجرذان يوضحه الجدول 4. حيث بينت النتائج حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في فعالية جميع قيم الإنزيمات ALT ، AST , ALP لكل مجاميع الحيوانات المعطاة Bisphenol A مع ماء الشرب، حيث بلغت قيم فعالية الإنزيم ALT ( 38 و 51 ) والإنزيم AST (48 و 55) والإنزيم ALP (148 و 155) وحدة عالمية / لتر مقارنة مع قيمها في مجموعة السيطرة التي كانت لكل منهم عند 25 ، 42 ، 138 وحدة عالمية / لتر على التوالي. كما أظهرت النتائج حصول انخفاض معنوي في فعالية الإنزيمات عند إضافة Bisphenol A بتركيزيه مع بكتريا حامض اللاكتيك إذ بلغت قيمة الإنزيم ALT 32 و 43 وحدة عالمية / لتر، وللإنزيم AST بلغ 45 و 49 وحدة عالمية / لتر، وللإنزيم ALP بلغ 143 و 149 وحدة عالمية / لتر في حالة بكتريا *Lb. casei*.

**جدول4. تأثير تراكيز Bisphenol A في بعض المعايير الإنزيمية(IU/L) في إناث الجرذان بعد فترة 21 يوماً**

| المعاملات | التركيز ميكروغرام/كغم | ALT | AST | ALP |
|---|---|---|---|---|
| السيطرة | 0 | 25e | 42d | 138d |
| السيطرة +*Lb. casei* | 2مل/حيوان/يوم | 19f | 32e | 119e |
| السيطرة +*Lb. acidophilus* | 2مل/حيوان/يوم | 21f | 34e | 117e |
| Bisphenol A | 5 | 38c | 48b | 148b |
| | 10 | 51a | 55a | 155a |
| Bisphenol A+*Lb. casei* | 5 | 32d | 45c | 143c |
| | 10 | 43b | 49b | 149b |
| Bisphenol A+ *Lb. acidophilus* | 5 | 33d | 45c | 145b |
| | 10 | 45b | 45c | 148b |

e-a : الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود إختلافات معنوية عند مستوى إحتمالية 0.05

ALP = Alkaline phosphatase: AST = Aspartate amino transferase : ALT = Alanine amino transferae

بينما بلغت قيمة الإنزيم ALT 33 و 45 وحدة عالمية / لتر، وللإنزيم AST بلغ 45 و 45 وحدة عالمية / لتر، وللإنزيم ALP بلغ 145 و 148 وحدة عالمية / لتر بالنسبة لبكتريا *Lb. acidophilus* مقارنة مع إضافة Bisphenol A لوحدها.

اتفقت النتائج مع ماذكره Mourad و Khadrawy، (2012) في حصول ارتفاع مستوى إنزيمات الكبد ALT و AST عند تغذية الجرذان على عليقة تحتوي على 5 و 10 ملغم / كغم / يوم من Bisphenol A مقارنة مع مجموعة السيطرة. كذلك اتفقت النتائج مع Korkmaz وآخرون، (2010) الذين أشاروا إلى حصول زيادة في نشاط إنزيم ALT و AST في الجرذان المغذاة على BPA بتركيز 25 ملغم / كغم. إن حدوث التغير في نشاطية إنزيمات الكبد بسب استهلاك BPA من قبل الحيوانات المختبرية يمكن أن يعود إلى تأثيرات المادة في العمليات الأيضية في خلايا الكبد وتثبيط فاعلية الإنزيمات المسؤولة عنها مما يسبب تلف خلايا الكبد وخروج الإنزيمات خارج الخلايا إلى الدم وبالتالي زيادة نشاطيتها لاسيما ALT و AST التي تدل زيادة نشاطيتها إلى حصول خلل في عمل الكبد ( Korkmaz وآخرون، 2010).

**تأثير Bisphenol A في التوازن الميكروبي :**

يوضح الجدول 5 تأثير Bisphenol A بالتركيزين 5 و 10 ميكروغرام / كغم في توازن المجتمع الميكروبي في أمعاء إناث الجرذان. بينت النتائج حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في أعداد بكتريا حامض اللاكتيك في الأمعاء الغليظة والصائم والأثني عشري عند إعطاء Bisphenol A مع ماء الشرب للحيوانات بالتركيزين 5 و 10 ميكروغرام / كغم إذ بلغت (6.30 و 6.69 و 6.59) و (5.84 و 5.93 و 5.87) على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة التي كانت (7.34 و 7.32 و 7.40)، وحصل ارتفاع معنوي عند التركيزين 5 و 10 ميكروغرام / كغم في أعداد البكتريا المرضية. كذلك بينت النتائج حصول تأثير معنوي لنوعي بكتريا حامض اللاكتيك *Lb. casei* و*Lb. acidophilus* عند إضافتها مع Bisphenol A بتركيز 5 و 10 ميكروغرام / كغم في خفض أعداد البكتريا المرضية وزيادة أعداد بكتريا حامض اللاكتيك.

**جدول 5 اثير تراكيز Bisphenol A في التوازن الميكروبي(Log) في أمعاء إناث الجرذان بعد فترة 21 يوماً**

| المعاملات | التركيز ميكروغرام /كغم | الأمعاء الغليظة | | | الصائم | | | الأثني عشري | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | MRS | EMB | M. agar | MRS | EMB | M. agar | MRS | EMB | M. agar |
| السيطرة | 0 | 7.34b | 6.30c | 7.40[b] | 7.32b | 6.69b | 7.23a | 7.40a | 6.23b | 6.84b |
| السيطرة + *Lb. casei* | 2مل/ حيوان/يوم | 8.25a | 5.41d | 6.69c | 8.49a | 6.07b | 6.60b | 8.02a | 5.44c | 6.14b |
| السيطرة + *Lb. acidophilus* | 2مل/ حيوان/يوم | 8.17a | 5.27d | 6.57c | 8.58a | 5.95b | 6.64b | 7.94a | 5.37c | 6.17b |
| Bisphenol A | 5 | 6.30c | 7.29b | 8.19a | 6.69c | 7.22a | 7.71a | 6.59b | 6.87a | 7.47a |
| | 10 | 5.84c | 8.03a | 8.65a | 5.93d | 7.97a | 8.13a | 5.87c | 7.59a | 8.07a |
| Bisphenol A + *Lb. casei* | 5 | 7.04b | 6.75c | 6.97b | 7.08b | 6.49b | 7.24a | 6.91b | 6.32b | 7.04 a |
| | 10 | 6.69b | 7.69a | 7.33b | 6.64c | 7.24a | 7.77a | 6.29b | 7.07a | 7.68a |
| Bisphenol A + *Lb. acidophilus* | 5 | 7.11b | 6.73c | 6.85c | 7.12b | 6.57b | 7.30a | 7.06b | 6.36b | 7.11a |
| | 10 | 6.78b | 7.56a | 7.20b | 6.76c | 7.15a | 7.72a | 6.32 b | 7.14a | 7.73a |

a-e : الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود إختلافات معنوية عند مستوى إحتمالية 0.05

M. agar = MacConkey agar : EMB = Eosine Methylene Blue : MRS = DeMan-Rogosa-Sharpe medium

إن تأثيرات BPA في حصول الخلل في أعداد وأنواع النبيت الطبيعي في الأمعاء يمكن أن يكون ناتجاً عن قابلية BPA السامة لأغلب الأنواع البكتيرية وبالتالي تثبيطها أو قتلها (Oishi، 2008) أما فاعلية أنواع بكتريا حامض اللاكتيك فانه يمكن أن يكون من خلال قدرة تلك الانواع في افراز حامض اللاكتيك الذي يمكن أن يسبب في تعطيل المواقع الفعالة لمركب BPA في الأمعاء وانخفاض تأثيره السام، فضلاً عن حجب امتصاصه من الأمعاء والتسبب في افرازه خارجاً مع الفضلات مما يسبب في زيادة الأنواع من بكتريا حامض اللاكتيك في الأمعاء والتوازن الإيجابي للنبيت الطبيعي في الأمعاء ( Szwajgier و Jakubczyk، 2010).

**المصادر :**

**Akingbemi** BT, Sottas CM, Koulova AI, Klinefelter GR and Hardy MP (2004). "Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells." Endocrinol. 145(2):592-603.

**APHA** (American Public Health Association). (1998) .Standard methods for examination of water and wastewater. 20th ed .American Public Health Association, U.S.A.appraisal" .cuff. Issues Intest. Micrbiol.,1(2):59-67.

**Bansal** AK, Bansal M, Soni J and Bhatnagar D (2005) Protective role of Vitamin E pre-treated on N-nitrosodiethylamine-induced oxidative stress in rat liver. *Chemico-Biological Interactions* 156: 101-111.

**Brotons**, J.A., Olea-Serrano, M.F., Villalobos, M., Pedraza, V.and Olea, N., (1995). Xenoestrogens released from lacquer coating in food cans. Environmental Health Perspectives, 103:608–612.

**Carr**, F. J.; Chill, D. and Maida, N. ( 2002 ). The lactic acid bacteria. A literature survey. Critical Reviews in Microbiology, 28 ( 4 ): 281- 370.

**Dagmar** P. and Margit C.(2007) Determination of bisphenol A in canned fish by sol–gel immunoaffinity chromatography, HPLC and fluorescence detection. Eur Food Res Technol 224: 629–634

**Duncan** , D.(1955).Multiple range and Multiple F-Test.Biometrics.11:1-42.

**Endo** Y.;Kimura N.;Ikeda I.;Fujimoto K.and Kimoto H.(2000) Adsorption of Bisphenol A by lactic acid bacteria, Lactococcus, strains Applied Microbiology and Biotecnology 74(1): 202-207

**Fromme** H, Kuchler T, Otto T, Pilz K, Muller J and Wenzel A. (2002) Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. Water Res, 36:1429-1438.

**Goldin** , B. R. ; Gorbach , S. L.; Saxelin , M. ; Barakat , S; Gualtiere , L. and Salminen , S. ( 1992 ) . Survival of *Lactobacillus* Pecies ( Strain GG ) In human gastrointestinal tract . Dig . Dis . Sci., 37 :121 – 128

**Gurmeet** K.;Rosnah I.;Normadiah M.; Das S. and Mustafa A.(2014) Detrimental effects of Bisphenol A on development and functions of the Male reproductive system in experimental rats, Excli Journal 13:151-160.

**Hammarling**, L., Gustavsso, H., Svensson, K. and Oskarsson, A., (2000). Migration of bisphenol-A diglycidyl ether (BADGE) and its reaction products in canned foods. Food Addit. Contam. 17 (11): 937–943.

**Harrigan**,W.F. and MacCance,M.E. (1976). Laboratory Methods in Food and dairy Microbiology . Academic Press. London.

**Hussein** R. M. and Eid J. I. (2013) Pathological mechanisms of liver injury caused by oral administration of bisphenol A. Life Science Journal 2013;10(1)663-673

**Korkmaz**, A., Aydogan, M., Kolankaya, D. and Barlas, N. (2010) Influence of vitamin C on bisphenol A, nonylphenol and octyl -phenol induced oxidative damages in liver of male rats. Food and Chem. Toxico. 48: 2865- 2871.

**Kumer** A., Sharma S.K., Vaidyanathan S.and J. Urol. 140, 484 (1988). Cited by Neha and Ramtej 2012.

**Luo** S. ;Wo S. ; Zhang Z. ;Zhou G. ;Gao Y. and Li J. (2009), Migration of Bisphenol A Diglycidyl Ether and Its Derivatives into Canned Meat and Fish. Vol. 30, No. 07

**Magdalena** P. A.(2012). Bisphenol-A acts as a potent estrogen via non-classical estrogen triggered pathways. . Molecular and Endocrinology 355,2: 201–207

**MHLW** (2010). Result of the survey conducted under the auspices of the MHLW in 2008–2009 on the occurrence of bisphenol A (BPA) in food and food contact materials [provisional translation]. Japan Ministry of Health, Labour and Welfare. Microbiology,63(1):13-20.

**Mourad** I. M. and Khadrawy Y. A. (2012) The Sensetivity of liver, kidney and testis of rats to oxidative stress induced by different dosses of Bisphenol A, Inter. J. of Life Science and Pharma Research2(2):19-28

**Munguı´a-Lo´pez**, E.M., and Soto-Valdez, H., (2001). Effect of heat processing and storage time on migration of bisphenol A (BPA) and bisphenol A-diglycidyl ether (BADGE) to aqueous food simulant from Mexican can coatings. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 49:3666–3671.

**National** Research Council Recommended(NAS-NRC).(2002). Dietary Allowance. 15th ed. Washington, DC. National Academy. Press.

**Oishi** K.; Tadashi S.; Wakae Y.; Yasuto Y.; Masahiko I.; and Haruji S.(2008) Effect of Probiotics, Bifidobacterium breve and Lactobacillus casei,on Bisphenol A Exposure in Rats. Biosci. Biotechnol. Biochem., 72 (6), 1409–1415

**Ouwehand**, A.C.; Kirjavainen, P.V.; Gronlund, M.M.; Isolauri, E. and Salminen, S. (1999). Adhesion of probiotic microorganisms to intestinal mucus. Int. Dairy J., 9:623–630.

**Pendone**, C.A.; Arnaud, C.C.; Postaire, E.R.; Bonley, C.F. and Reiner, L.P. (2000). Multicentric study of the effect of milk fermented by a *Lactobacillus casei* on the incidence of diarrhea. Int. J. Clin. Pract., 54(9): 568-571.

**Rantala** M. (1974). Nitrovin and tetracycline: a comparison of their effect on Salmonella inchicks. Br. Poultry. Sci., 15: 299 - 303.

**Rastkari**, N.; Yunesian, M. and Ahmadkhaniha R. (2011) Levels of Bisphenol A A and Bisphenol F in canned foods in Iranien markets. Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng., , Vol. 8, No. 1, pp. 95-100

**SAS** (2001). SAS User's guide: Statistical system, Inc. Cary, NC. USA.

**Schecter** A et al. (2010). Bisphenol A in US food. *Environmental Science & Technology*, 44(24):9425–9430.

**Szwajgier** D. and Jakubczyk, A. (2010) Biotransformation of ferulic acid by *Lactobacillus acidophilus* K1 and selected *Bifidobacterium* strains. Acta. Sci. Pol. Technol. Aliment., 9(1): 45-59.

**Szymański** A., Rykowska I., and Wasiak W., (2006). Determination of Bisphenol A in water and milk by micellar liquid Chromatography. Acta Chromatographica, NO. 17:161-172

**Tietz**, Y. ed (2005) "Clinical Biochemistry" 6 th ed., McGraw-Hill, New York , p. 825

**Varely** H (1987). Practical clinical biochemistry. 6th ed. Eds. Gowenlock AH, McMurray JR & Mclauchlan DM. London, Heinemann Medical Books. pp. 477-549.