جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية علوم البيئة وتقاناتها

عزل وتشخيص بكتريا *Lactobacillus Salivarius* والتحري عن قدرة البكتريوسين المنتج في المعالجة الحيوية

فرح جمال خضر أمين

رسالة ماجستير
في علوم البيئة

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتور
أيمن محمد جبر البناء

الأستاذ المساعد الدكتور
أرقم محمد أزهر العمري

١٤٤٤هـ ٢٠٢٢م

الخلاصة

يتزايد التلوث البيئي بشكل عام بسبب المعادن الثقيلة والكائنات الدقيقة التي قد تتواجد في الهواء أو التربة أو الماء أو حتى الطعام. على الرغم من أن مفهوم البكتريا بشكل عام ضارة بالإنسان، إلا أن عدد من أنواعها تعد ذات قيمة كبيرة وآمنة، خاصة في العلاج البيولوجي مثل مجموعة بكتريا Probiotic. بكتريا *Lactobacillus salivarius* أحد أكثر الأنواع الأساسية للكائنات الحية الدقيقة غير المؤذية للإنسان والتي قد تلعب دورًا رئيساً لقدرتها على المعالجة الحيوية بشكل عام. الهدف الرئسي في هذه الدراسة هو عزل وتشخيص بكتريا *Lactobacillus salivarius* وقدرتها على انتاج البكتريوسين واختبار فعاليته الحيوية .

تم العمل في كلية علوم البيئة وتقاناتها و كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل .حيث تم عزل و تشخيص بكتريا الـ *Lactobacillus salivarius* بالطرق المزرعية باستخدام الوسط الانتخابي MRS agar، ثم بالطرق الكيمياء الحيوية باستخدام طريقة VITEK 2 واخيراً تم تأكيد بالطرق الجزيئية بكتريا *Lactobacillus* بإستخدام تقنية PCR . تم استخلاص البكتريوسين المنتج من قبل *Lactobacillus salivarius* وتحديد حجمه من خلال عزلة بوساطة جل البروتين SDS gel . ثُم بعد ذلك حدد نوعه باستخدام تقنية كروموتوغرافيا السائلة العالية ألاداء HPLC وكان من نوع Bacteriocin TXJ ، حددت فعالية قدرة البكتريوسين TXJ الحيوية تجريبياً على ازالة بعض أنواع المعادن الثقيلة في ضوء إستخدام ثلاث تركيزات مختلفة في هذه الدراسة 20 ، 40 ، 60 جزء في المليون لخمسة معادن ثقيلة رئيسية (النحاس ، الكادميوم ، الرصاص ، الكروم والزنك) ، والتي تمت إضافتها إلى البكتريوسين المستخلص. تم إستخدام تقنية الامتصاص الذري لتحديد مستويات المعدن الثقيل. علاوة على ذلك، الاختبار تم بناءً على المقارنة قبل وبعد إضافة بروتين البكتريوسين. المثير

للدهشة إن النتائج أظهرت أن البكتريوسين TXJ لديه قدرة عالية في عملية إزالة جميع المعادن الثقيلة الضارة التي أستخدمت في هذه الدراسة. كانت أعلى نسبة إزالة للمعدن الثقيل هي الحديد (Fe) والزنك (Zn) بتركيز 10 و 20 و 40 جزء من المليون بنسبة 70–95٪ تقريبًا. أما في الكروم والنحاس الكروم والنحاس ، كان مستوى النسبة المئوية للإزالة ما بين 35–68٪. بينما تمت إزالة مستوى الكادميوم (Cd) بنسبة تقل عن 32٪. في المقابل تم إختبار قدرة البكتريوسين على تثبيط تكوين الBiofilm، حيث كانت أعلى نسبة تثبيط عند التركيز 200 مايكروليتر بنسبة 91% وتركيز 80 و 100 مايكروليتر ،87,6 و79,8% على التوالي . في حين كانت نسبة الازالة عند التركيز 40 و60 مايكروليتر 48,7–55,8% على التوالي.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research
University of Mosul
College of Environmental Sciences and Technology

Isolation and Identification of *Lactobacillus Salivarus* Bacteria and investigation of product Bacteriocin potential in Bioremediation

Farah Jamal Khuder ALameen

M.Sc. Thesis
Environmental Sciences

Supervised by

Assistant Professor
Dr. Ayman Mohamed Jaber Albanna

Assistant Professor
Dr. Arqam Mohamed Azhar Alomari

2022 A.D. **1444 A.H.**

Abstract

Pollution in general is constantly increasing being polluted by environmental pollution with heavy metals that may be located in the air, soil, water, or even food. In spite of being bacteria, in general, are harmful to humans, they are sometimes considered very valuable and safe, especially in biological treatment like probiotic bacteria group. *Lactobacillus salivarius* is one of the maximum essential sorts of microorganisms that are harmless to human and that may be playing a very capability position to cast off and removal heavy metals in different media. The main object of this study that isolation and identification of *Lactobacillus salivarius* from Greek yogurt and their ability for biological remedy. *Lactobacillus salivarius* was identified by conventional methods by using MRS agar as a selection medium, also a new biochemical technique $VITEK_2$ was used 63 tests for emphasized, and finally, *Lactobacillus salivarius* was confirmed via Multi Locus Sequence typing (MLST) technique. Subsequently, the bacteriocin was extracted from *Lactobacillus salivarius* isolates and determined by using gel protein SDS-page. Then, The type of bacteriocin was determined via high-performance liquid chromatography technique (HPLC), and the Bacteriocin was TXJ group.

The activity of bacteriocin TXJ was experimentally determined by their vital ability to eradicate some types of heavy metals (copper, cadmium, lead, chromium and zinc)by using three different concentrations (20, 40 and 60 ppm). In this study, all experiments have done by Atomic absorption technology were used to determine heavy metal levels. Moreover, the test is based on a comparison before and after the addition of bacteriocin TXJ protein. Surprisingly, the results showed that bacteriocin TXJ has a high ability to remove all harmful heavy metals that were used in this project. The highest removal of heavy metals was iron

(Fe) and zinc (Zn) for 10, 20 and 40 ppm at approximately 70-95%. In contrast, in terms of chromium and copper, the percentage level of removal was between 35-68%. While in cadmium (Cd) less than 32% of the level was removed. On the other hand, the ability of bacteriocin TXJ to inhibit the action of the biofilm activity was tested. The highest reduction rate was at a concentration of 200µl by 91%, and at a concentration of 80-100µl, was 87.6-79.8%. Whereas, the lowest reduction rate at a concentration of 40-60µl was 48.7-55.8%, respectively.