جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات

تحديد العوامل المشجعة لإنتاج الأغشية الحيوية لبكتريا *Lactobacillus plantarum*

مريم ليث خليل قاسم

رسالة ماجستير

علوم الأغذية

اشراف

الدكتور طارق زيد ابراهيم

مدرس

1445هـ
2024 م

الخلاصة

أجريت الدراسه في مختبر التسمم قسم علوم الاغذيه كليه الزراعه والغابات جامعه موصل للفترة من 2022/7/1 الى2023/4/1 هدفت الدراسة الى تحديد العوامل المثلى لإنتاج الاغشية الحيوية لهذه البكتريا المنماة على وسط MRS, لمعرفة عدد الخلايا الحية تم اتباع طريقة العد بالتنقيط استخدمت عزلتين على انتاج الاغشية الحيوية فكانت اعداد الخلايا 5.5×10^5 خلية/حفرة و7.2×10^4 خلية /حفرة للعزلة الاولى والثانية على التوالي.

بينت نتائج الدراسة بالنسبة لدرجة الحرارة المثلى لتكوين الأغشية الحيوية كان 25 و37م° لمدة حضن 48 ساعة، إذ بلغ لوغاريتم معدل نمو الاغشية الحيوية عند 25م° في للعزلة الثانية 8.74 لوغارتم/خلية وعند درجة 37 م° وكان لوغارتم 9.176 عند درجة 8م^0 فلم يظهر نمو .

وكان الرقم الهيدروجيني الأمثل 8 هو أفضل في انتاج الاغشية الحيوية اذ كانت 8.875 لوغارتم/خلية و في انتاج الاغشية الحيوية انخفضت عند تنميتها في الرقم الهيدروجيني 4 و5 و 6 و 7.

اما في مايخص الاوساط لوحظ ان اعلى نمو للاغشية الحيوية كانت عند تلقيح البكتريا في وسط مرق MRS (7.861لوغارتم/خلية) اما بالنسبة لاستخدام مرق MRS فكانت نتائج النمو اعلى من الوسط TSB اذ كانت (7.544لوغارتم/خلية).

واظهرت اختبار اضافة وسط الماكونكي الى الاغشية الحيوية بعمر 24 ساعة من الحضن كان عدد الخلايا فيه 8 لوغارتم/خلية وقد انخفظت بعد مرور 24 ساعة فكانت 3.77 لوغارتم /خلية مما يدل على ان اضافة وسط الماكونكي الى الاغشية الحيوية للبكتريا قد ادئ الى اندثارها تدريجيا بعد مرور 24 ساعة

لم تلاحظ هذه الدراسة اي نمو وتكوين للاغشية الحيوية بظروف لاهوائية باستخدام اوساط الماكونكي و TSB.

اعطى اختبار إضافة السكريات الى وسط النمو المستخدم MRS لملاحظة تاثير تكوين الأغشية الحيوية وتم اضافة السكريات بالنسب التالية (0.5و1و 1.5و 2%). كانت النتائج متقاربة بالنسبة لإضافة كل من الكالاكتوز و الكلوكوز والسكروز والفركتوز والارابينوز حيث كانت الزيادة في النمو واضحة بالنسبة للأغشية الحيوية بزيادة التركيز للسكريات ثم يبدا النمو بالانخفاض عند التركيز 2%.

اما بالنسبة لسكر المالتوز لوحظ انخفاض ملحوظ في لوغاريتم عدد خلايا الاغشية الحيوية عند التركيز 1% اما بالنسبة للنشا حيث كانت النتائج تختلف عن نتائج بقية السكريات اذ ازداد نمو الاغشية عند تركيز 2%منه.

اظهرت رواشح مستنبتات الاغشية الحيوية لبكتريا *L.plantarum* تاثيراً ضد بعض انواع البكتريا الممرضة وتاثير الأغشية الحيوية عليها اذ كانت النسبة المئوية لقطر التثبيط للعزلة الثانية بالنسبة لكل من *E.coli* *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphy. aureus* 40 و35.5 و26.5 على التوالي.

وان افضل نسبة تثبيط ضد بكتريا *E. coli* انتج عنه تنمية مستنبتات الأغشية الحيوية لبكتريا *L.plantarum* في درجة حرارة 37م^0 مقارنة مع نسبة تأثير المستنبتات المنتجة في درجة حرارة 25م^0

وان تنمية مستنبتات الاغشية الحيوية المنتجة في الرقم الهيدروجيني 7 اعطت اعلى نسبة تثبيط لبكتريا *E. coli* مقارنة بالارقام الهيدروجيني المستخدمة في التجارب اذ بلغ 52%.

واعطى اختبار التثبيط ضد بكتريا *E.coli* بوجود نفس تراكيز السكريات المذكورة سابقا فقد لوحظ زيادة نسبة قطر التثبيط عند زيادة تراكيز السكريات بالنسبة للاغشية الحيوية مقارنة بعينة السيطرة اذ كانت نسبة تثبيطه الاعلى مقارنة بوجود تراكيز من السكريات باستثناء سكر المالتوز حيث كانت نسبة التثبيط عند نسبة السكر 0.5 اعلى ثم انخفضت النسبة عند ارتفاع التركيز .

واظهرت المستنبتات بكتريا *L .plantarum* المنماه على وسط MRS نسبة تثبيطها وصلت الى 54% ضد بكتريا *E.coli* وهي اعلى مقارنة مع نسب التثبيط التي اعطتها مستنبتات الاغشية الحيوية المنتجة في وسط TSB .

Summary

The study was conducted in the Toxicity Laboratory, Department of Food Sciences, College of Agriculture and Forestry, University of Mosul, for the period from 1/7/2022 to 1/4/2023. This study aimed to determine the optimal factors for producing biofilms for these bacteria grown on MRS medium. To determine the number of living cells, the drop counting method was followed. Two isolates were used to produce biofilms, and the cell numbers were 5.5 x 10^5 and 7.2 x 10^4 cells/hole for the first and second isolates, respectively.

The results of the study showed that the optimum temperature for biofilm formation was 25 and 37 °C for an incubation period of 48 hours. The growth rate of biofilms at 25 °C for the second isolate wasn Log 8.74, and at 37 °C it wasn Log 9.176, and at 8 °C no growth appeared .

The optimum pH of 8 was the best in producing biofilms, as it was 8.875 log/cfu, and the production of biofilms decreased when grown at pH 4, 5, 6, and 7.

As for the media, it was observed that the highest growth of biofilms was when the bacteria were inoculated in MRS broth medium (7.861 log/cfu). As for using MRS broth, the growth results were higher than in TSB medium, as it was (7.544 log/cfu).

The test of adding MacConkey medium to biofilms at 24 hours of incubation showed that the number of cells in it was 8 log/cfu, and it decreased after 24 hours to 3.77 log/cfu, which indicates that adding MacConkey medium to biofilms of bacteria may have gradually caused their extinction after 24 hours pass

This study did not observe any growth and formation of biofilms under anaerobic conditions using MacConkey media and TSB.

The test for adding sugars to the growth medium used gave an MRS to observe the effect of biofilm formation. Sugars were added in the following ratios (0.5, 1, 1.5, and 2%). The results were similar for the addition of galactose, glucose, sucrose, fructose, and arabinose, as the increase in growth was clear for biofilms with increasing concentration of sugars, then growth began to decrease at the 2% concentration. As for maltose, a noticeable decrease was observed in the logarithm of the number of vital membrane cells at a concentration of 1%.

As for starch, the results were different from the results for the rest of the sugars, as membrane growth increased at a concentration of 2%.

The filtrate of biofilm cultures of *L. plantarum* isolate 2 showed an effect against some types of pathogenic bacteria and the effect of biofilms on them, as the percentage of diameter of inhibition for the second isolate was for both *E.coli, Pseudomonas aeruginosa* and *Staphy aureus,* 40, 35.5 and 26.5 respectively.

The best rate of inhibition against *E. coli* bacteria resulted in the growth of biofilm cultures of *L. plantarum* bacteria at a temperature of 37°C compared to the effect rate of cultures produced at a temperature of 25°C.

Growing the biofilm cultures produced at pH 7 gave the highest rate of inhibition of *E. coli* bacteria compared to the pHs used in the experiments, reaching 52%.

The inhibition test was given against *E.coli* bacteria in the presence of the same concentrations of sugars mentioned previously. It was observed that the inhibition diameter increased when the sugar concentrations increased for the biofilms compared to the control sample, as its inhibition rate was higher compared to the presence of concentrations of sugars, with the exception of maltose, where the inhibition rate was at the sugar level. 0.5 higher, then the percentage decreased when the concentration increased.

Cultures of *L. plantarum* bacteria grown on MRS medium showed an inhibition rate of 54% against *E.coli* bacteria, which higher compared to the inhibition rates given by biofilm cultures produced in TSB medium.

University of Mosul

College of Agriculture and Forestry

Detecting the supporting elements for *Lactobacillus plantarum* biofilm formation

Maryam Layth Khaleel Qassem

M. Sc. Thesis

Food Science

Supervised

By

Dr. Tariq Zaid Ibrahim

Lecturer

2024 A.D 1445 A.H