

## تأثير شروط النمو في تركيب الأحماض الدهنية لبكتريا *Staphylococcus aureus*

بسام العقلة<sup>(1)</sup> و أنور الحاج علي<sup>(2)</sup> صباح اليازجي<sup>(2)</sup>

### الملخص

هدف البحث إلى دراسة تأثير شروط النمو المختلفة (درجة الحرارة، وعمر المستعمرة ووسط الزرع) في تركيب الأحماض الدهنية للغشاء الستوبلازمي لـ 37 عزلة لبكتريا *Staph. aureus* باستخدام جهاز الاستشراب الغازي المزود بوحدة مطياف الكتلة (GC-MS). أظهرت النتائج بأن عدد الأحماض الدهنية لبكتريا *Staph. aureus* قد بلغ 33 حمضاً، وكانت الأحماض الدهنية الرئيسية الثمانية هي انتسي ايزو تيترا ديكانويك (Ca15:0) و اوكتا ديكانويك (C18:0) و ايكوسانويك (C20:0) و ايزوتيترا ديكانويك (Ci15:0) و ايزو تري ديكانويك (Ci14:0) و هكساديكانويك (C16:0) و انتسي ايزو هكساديكانويك (Ca17:0) و اوكتا ديسينويك (C18:1) و بنسب بلغت 7.32 و 14.94 و 18.37 و 33.96 و 1 و 6.2 و 4.14 و 3.03 و 2.9 % على التوالي، في حين كانت نسبة الأحماض الدهنية الأخرى أقل من 1% لكل منها. أدى ارتفاع درجة حرارة التحضين إلى تناقص كل من Ca15:0 و Ci15:0 و C16:0 و C18:1 و زيادة كل من Ca17:0 و Ci14:0 و C18:0 و C20:0، وأدت زيادة عمر المستعمرة تناقص C16:0 و C18:0 و C18:1 و C20:0 و زيادة Ca15:0 و Ca17:0، فضلاً عن أن اختلاف وسط الزرع أدى إلى تباين في نسبة الأحماض الدهنية لكل من Ca15:0 و C18:0 و C20:0، ولم تلاحظ تغيرات واضحة في نسب بقية الأحماض الدهنية مع تغير شروط النمو.

الكلمات المفتاحية: أحماض دهنية، بكتريا *Staph. aureus*، درجة الحرارة، عمر المستعمرة، وسط الزرع، استشراب غازي -مطياف الكتلة.

<sup>(1)</sup> طالب دكتوراه، <sup>(2)</sup> أستاذ في كلية الزراعة، قسم علوم الأغذية، ص. ب 30621. جامعة دمشق، سورية.

## The effect of growth conditions on fatty acids composition of cytoplasm membrane of *Staphylococcus aureus*

Oklah, B.<sup>(1)</sup>, A. Alhajali<sup>(2)</sup> and S. Yazagi<sup>(2)</sup>

### Abstract

This research aimed to study the effect of various growth conditions (temperature, culture age and culture medium) on the fatty acids composition of cytoplasm membrane of 37 isolates of *Staphylococcus aureus* using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Results revealed that the total number of fatty acids of *Staph. aureus* was 33. Eight of them were principle and included: anti-isotetradecanoic acid (aC15:0), octadecanoic acid (C18:0), eicosanoic acid (C20:0), isotetradecanoic acid (Ci14:0), isotridecanoic acid (Ci15:0), hexadecanoic acid (C16:0), antiohexa- decanoic acid (Ca17:0) and octadecenoic acid (C18:1) with a percentage of 33.96, 18.37, 14.94, 7.32, 6.23, 4.14, 3.03 and 2.89%, respectively. The percentage of each of the other fatty acids was less than 1%. Increasing the incubation temperature was associated with reducing the percentages of Ca15:0, Ci15:0, C16:0 and C18:1; and increasing Ca17:0, Ci14:0, C18:0 and C20:0. The increase in incubation period caused a decrease in C16:0, C18:0, C18:1 and C20:0; and an increase in Ca15:0 and Ca17:0. Moreover, the variation in culture media caused differences in the percent of Ca15:0, C18:0 and C20:0; while the other fatty acids showed no changes.

GC-MS

**Keywords:** Fatty acids, *Staphylococcus aureus*, Incubation temperature, Culture age and medium.

---

<sup>(1)</sup> Ph. D. student, <sup>(2)</sup> Prof. Dr. Food Sci. Dep., Agri. Fac., Damascus University, P.O. Box 30621, Syria.

## المقدمة

وصفت بكتريا *Staph. aureus* أول مرة من قبل Alexander Ogston في أواخر القرن التاسع عشر، وتنمو في عدة أوساط غير انتقائية في المخبر وبتركيز ملحية تصل إلى 20% وبمجال درجات حرارة بين 15 و 45 س° (Green و Goldman، 2009) وتؤثر هذه الظروف في سيولة الغشاء الخلوي؛ وذلك للمحافظة على سلامة الغشاء ضد الظروف الخارجية (Laksoo و Suutari، 1994).

يمكن أن تتغلب الأحياء الدقيقة على ظروف الإجهاد بتطوير آلية التكيف المتاحة لها لمرور المواد الغذائية ضمن الغشاء السيتوبلازمي (Chihib، 2003) الذي يؤدي دوره الحيوي في الإبقاء على التوازن وتنظيم دخول الجزيئات وخروجها، ومن ثم يمثل الغشاء السيتوبلازمي هدفاً رئيساً للتكيف مع تغيرات ظروف البيئة الخارجية (Russell، 1995)، لذلك تملك الأحياء الدقيقة القدرة على تغيير تركيبها الكيميائي استجابة للعوامل الخارجية (Bezbaruah، 1988). تتبع البكتريا إستراتيجية للتكيف مع تغيرات البيئة، تتمثل بتعديل سلسلة الاسيل الدهنية للغشاء السيتوبلازمي للإبقاء على سيولة كافية متوافقة مع سلامة الغشاء ووظيفته (Russell، 1985)، حيث تصطنع الأحياء الدقيقة دهونها بسرعة لذا تستجيب لمغيرات الوسط بالسرعة نفسها (Nicolaus و زملاؤه، 1995).

يتعدل تركيب الأحماض الدهنية لبكتريا *Staph. aureus* وفقاً لظروف النمو إذ إنها تؤثر في تركيب دهن الغشاء كحرارة التحضين (Annous، 1999) حيث تميل الأحياء الدقيقة عموماً لمقاومة زيادة الحرارة وانخفاضها بزيادة نسبة الأحماض المشبعة طويلة السلسلة وخاصة أحماض الانتي ايزو (Nordstrum، 1992)، ويؤثر تركيب وسط النمو (Schweizer، 1989) وعمر المستعمرة (Rees، 1995) في تركيب الأحماض الدهنية للغشاء (Boulton و Ratledge، 1985)، فضلاً عن أن العوامل البيئية الأخرى مثل درجة الحموضة (Own و زملاؤه، 1997)، والملوحة التي تعدل الكثير من الأحماض الدهنية للأحياء الدقيقة (Sajbidor، 1997).

سجلت العديد من الدراسات تأثير شروط النمو للبكتريا في تركيب نسب الأحماض الدهنية، فقد درس Moroz و زملاؤه (2010) تأثير الحرارة وعمر المستعمرة في تركيب الأحماض الدهنية المشبعة المنفرعة لبكتريا *Clavibacter michiganensis*، وبيّن Day و Oliver (2004) تغير تركيب الأحماض الدهنية استجابة لتغير درجات الحرارة المختلفة للبكتريا *Vibrio vulnificus*. كما بين Olson و Ingram (1975) تأثير تركيب الوسط ودرجة الحرارة في تركيب الأحماض الدهنية ونسبها لبكتريا *Agmenellum quadruplicatum*. كما بيّن Scherer و زملاؤه (2003) أيضاً أن نسبة الأحماض الدهنية

لبكتريا *Helicobacter pylori* تتغير بتغير تركيب الوسط، وقد وجد Kamimura وزملاؤه (1993) زيادة نسبة الأحماض غير المشبعة مع انخفاض الحرارة في دراستهم على بكتريا بحرية. كما اختار Zarnowski وزملاؤه (2004) ستة أحماض دهنية رئيسية في بكتريا *Bacillus subtilis* لدراسة تأثير عمر المستعمرة في نسبة الأحماض الدهنية المدروسة. وفي دراسة أجراها Wang وزملاؤه (2005) وجدوا أن خمسة أحماض دهنية رئيسية تشكل النسبة العظمى لبكتريا *Lactobacillus acidophilus* حيث تأثرت بدرجات الحرارة ودرجات الحموضة.

وفي دراسة أخرى بين Drici-Cachon وزملاؤه (2008) أن تركيب الأحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة لسلاسل *Leuconostoc* قد تغيرت بتغير عمر المستعمرة ودرجة الحموضة.

ونظراً إلى ندرة البحوث العلمية المتعلقة بتأثير شروط النمو المختلفة على نسب الأحماض الدهنية في الغشاء الستوبلاسمي لبكتريا *Staph. aureus*، هدف هذا البحث إلى تحديد نوع الأحماض الدهنية التي تكون الغشاء الستوبلاسمي ونسبها ودراسة تأثير درجات الحرارة المختلفة وعمر المستعمرة ونوع الوسط في تغيرات نسب الأحماض الدهنية لبكتريا *Staph. aureus* من خلال تغيير الحالة الفيزيولوجية للغشاء الستوبلازمي باستخدام جهاز الاستشراب الغازي المزود بوحدة مطياف الكتلة (GC-MS).

### مواد البحث وطرقه

**عزل البكتريا وتصنيفها:** عزلت 37 عزلة بكتيرية من *Staph. aureus* من عينات غذائية عشوائياً بمعدل 92 عينة (أجبان - لحوم - حلويات) على وسط انتقائي Mannitol (MSA) salt agar وصنفت باستخدام صفائح API 20 Staph (Goldman and Green) (2009).

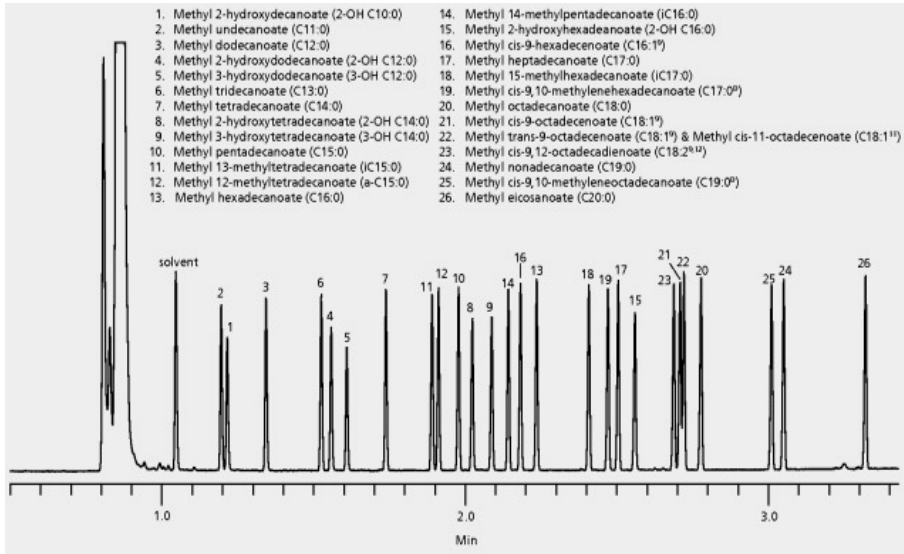
**شروط النمو:** نميت عزلات *Staph. aureus* على وسط (TSA) Tryptic soy agar بدرجات حرارة مختلفة 23، 30، 37°س، وجمع 0.4 غ من كتلة المستعمرة البكتيرية النامية وبأعمار مختلفة من 16، 24، 48 ساعة لاستخلاص الدهون المكونة للبكتريا.

**أوساط الزرع:** وسط (MSA) Mannitol salt agar الذي يتألف من بروتينوز بيتون 5غ/ل، كلوريد الصوديوم 75غ/ل، مانيتول 10غ/ل، أحمر فينول 25 مغ/ل وأغار 15 غ/ل لعزل البكتريا ونموها.

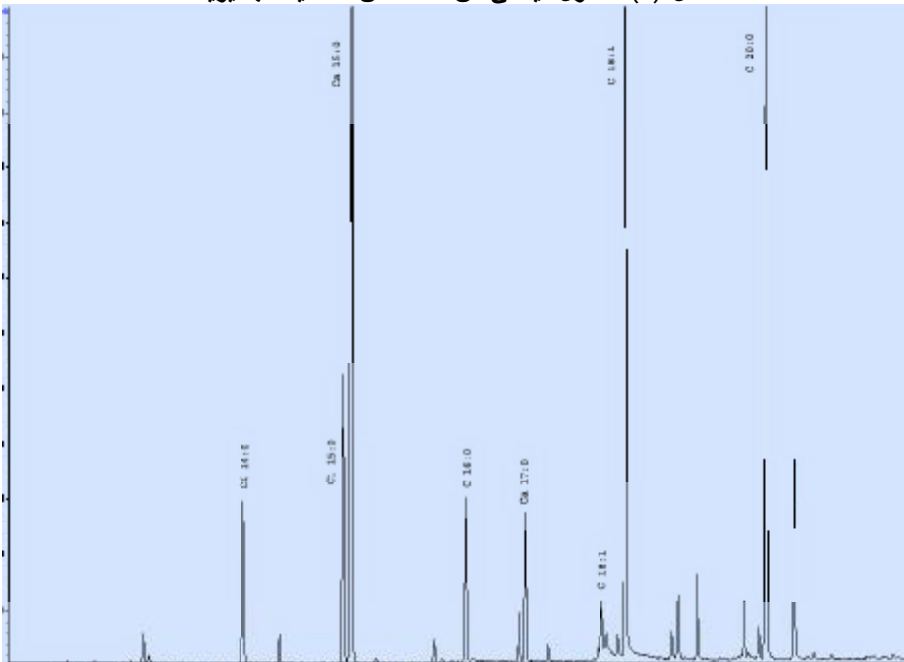
- وسط (TSA) Tryptic soy agar الذي يتكون من كازئين 17غ/ل، كلوريد الصوديوم 5غ/ل، بروتين الصويا 3 غ/ل، فوسفات ثنائية البوتاسيوم 2.5 غ/ل، غلوكوز 2.5 غ/ل وأغار 15غ/ل لنمو البكتريا.

- وسط Nutrient agar (NA) الذي يتألف من بيتون 5 غ/ل، كلوريد الصوديوم 5 غ/ل، مستخلص خميرة 2 غ/ل، مستخلص لحم 1 غ/ل وأغار 15 غ/ل لنمو البكتريا.

**استخلاص الأحماض الدهنية وتقدير نسبها:** استخلصت الأحماض الدهنية وفقاً لطريقة (Sasser, 1990) مع بعض التعديلات التي تعتمد على وضع كتلة المستعمرة البكتيرية بوزن 0.4 غرام من الأطباق النامية في أنابيب (1.6×20) سم حاوية على 3 مل من محلول A (45 غ هيدروكسيد الصوديوم+150 مل ميثانول+150 مل ماء مقطراً). أغلقت الأنابيب بإحكام وسخنت بحمام مائي يغلي نموذج Memmert مدة 30 دقيقة ومن ثم بردت. ثم أضيف 6 مل من محلول B (325 مل حمض كلور الماء 6N + 275 مل ميثانول) وسخنت مدة 10 دقائق على الدرجة 80° س. ثم أضيف 3.75 مل من محلول C (200 مل هكسان + 200 مل ميثيل بوتيل إيثر)، وقلبت باستخدام مقلب دوراني نموذج Stuart بلطف مدة 10 دقائق. ثم نقلت الأنابيب بسرعة 5000 د/د مدة 5 دقائق باستخدام مثقلة نموذج Hettich، ثم استبعدت الطبقة السفلية المائية. أضيف 9 مل من محلول D (10.8 غ هيدروكسيد الصوديوم في 900 مل ماء مقطر) ووضعت على رجاج نموذج Velp مدة 5 دقائق، ونقلت على سرعة 5000 د/د مدة 5 دقائق وسحب 2/3 الطبقة العليا الحاوية على الأحماض الدهنية إلى أنبوب سعته 2 مل لتصبح جاهزة للحقن بجهاز الاستشراب الغازي (GC) المزود بوحدة مطياف الكتلة (MS) نموذج Agilent. استخدام العمود الشعري من نوع DB-1 (30 م × 0.25 ملم × 0.20 μm). أجري تحليل الأحماض الدهنية وفقاً لبرنامج حراري مدته 41 دقيقة والمبرمج بحسب الآتي: 125° س مدة 2 دقيقة، 125-150° س بمعدل 5° س/د، 150-250° س بمعدل 4° س/د مع استخدام غاز الهليوم كغاز حامل بمعدل تدفق 1 مل/دقيقة. ضبطت درجة حرارة الحاقن عند 250° س، وكمية العينة المحقونة 1 ميكرو لتر بمعدل تجزئة 1:50. استخدم محلول قياسي من الأحماض الدهنية البكتيرية من شركة Supelco الأمريكية الذي يحوي 26 حمضاً دهنياً للبكتريا السالبة والبكتريا الموجبة، والشكل (1) يبين زمن احتباس الأحماض الدهنية في المحلول القياسي المنشأ في دراستنا، أما بقية الأحماض الدهنية فقد جرى التعرف إليها باستخدام المكتبة (NIST) الملحقة بجهاز GC-MS.



الشكل (1) محلول قياسي من الأحماض الدهنية البكتيرية



الشكل (2) مخطط كروماتوغرافي للأحماض الدهنية لإحدى عزلات بكتريا *Staph. aureus*

## النتائج والمناقشة

### تعيين نوع الأحماض الدهنية ونسبتها لبكتريا *Staph. aureus*

بيّن الجدول (1) نوع الأحماض الدهنية ومتوسط نسبها لبكتريا *Staph. aureus* بعمر 24 ساعة وعلى درجة تحضين 37 درجة مئوية والمقدرة كنسبة مئوية من 37 عذلة بكتيرية باستخدام جهاز الاستشراب الغازي المزود بوحدة مطياف الكتلة (GC-MS). إذ يلاحظ أن الغشاء الستوبلاسمي قد احتوى على 33 حمضاً دهنيّاً تضمنت الأحماض الدهنية المشبعة مستقيمة السلسلة والأحماض الدهنية المتفرعة (إيزو وانتي إيزو) والأحماض الدهنية غير المشبعة. وكانت الأحماض الدهنية الرئيسية الثمانية هي انتي إيزو تيترايديكانويك (Ca15:0)، اوكتايديكانويك (C18:0)، إيكوسانويك (C20:0)، إيزوتيترايديكانويك (Ci15:0)، إيزو تريديكانويك (Ci14:0)، هكساديكانويك (C16:0)، انتي إيزو هكساديكانويك (Ca17:0)، اوكتا ديسينويك (C18:1)، ونسبة بلغت 33.96، 18.37، 14.94، 7.32، 6.23، 4.14، 3.03، 2.89 % لكل منها على التوالي، في حين كانت نسبة كل من الأحماض الدهنية الأخرى أقل من 1% وهي Ci13:0، Ci12:0، Ca13:0، C14:1، C14:0، C15:0، C16:0، Ci16:0، C16:1، C17:0، C17:0Δ، C17:0، C18:2، C18:0، Ci18:0، Ci19:0، Ca19:0، C19:0Δ، C19:0، C20:2، C20:0، Ca20:0، Ci21:0، Ca21:0، C21:0، Ca22:0.

وقد توافقت هذه النتائج مع ما أورده Durhum و Kloos (1978) حيث شكلت الأحماض الدهنية Ca15:0 و C18:0 و C20:0 النسب العليا من بين الأحماض الدهنية الكلية لبكتريا *Staph. aureus* إذ بلغت نسبة Ca15:0 34.8% ونسبة C18:0 19.5%، كما توافقت مع ما وجده Singh وزملاؤه (2008) في بحثهم من أن الحمض الدهني Ca15:0 والحمض الدهني C18:0 قد شكلا النسبة العليا لبكتريا *Staph. aureus*، في حين اختلفت مع ما وجده Behme وزملاؤه (1996) في دراستهم على تركيب الأحماض الدهنية لبكتريا *Staph. aureus* من أن نسبة Ca15:0 قد وصلت بحدّها الأعلى إلى 45% من بين الأحماض الدهنية. وبمقارنة هذه النسب بدراستنا نجد أن القيمة كانت أخفض، وربما يعود ذلك إلى استخدامهم وسط آغار الدم في تنمية البكتريا.

الجدول (1) نوع الأحماض الدهنية ومتوسط نسبها لبكتريا *Staph. Aureus* على درجة 37° س وعمر 24 ساعة.

الرقم	الاسم العلمي للأحماض الدهنية	عدد ذرات الكربون	المتوسط الحسابي والانحراف المعياري %
1	ايزو انديكانويك	Ci12:0	0.08±0.14
2	ايزو دوديكانويك	Ci13:0	0.64±0.40
3	انتى ايزو دوديكانويك	Ca13:0	0.29±0.16
4	ايزو تريديكانويك	<b>Ci14:0</b>	<b>6.23±2.98</b>
5	تيترا ديسيبيك	C14:1	0.01±0.01
6	تيترا ديكانويك	C14:0	0.10±0.58
7	ايزو تيترا ديكانويك	<b>Ci15:0</b>	<b>7.32±3.17</b>
8	انتى ايزو تيترا ديكانويك	<b>Ca15:0</b>	<b>33.96±3.21</b>
9	بينتاديكانويك	C15:0	0.07±0.07
10	ايزو بينتاديكانويك	Ci16:0	0.84±0.61
11	هكساديسيبيك	C16:1	0.05±0.10
12	هكساديكانويك	<b>C16:0</b>	<b>4.14±1.58</b>
13	ايزو هكساديكانويك	Ci17:0	0.75±0.38
14	انتى ايزو هكساديكانويك	<b>Ca17:0</b>	<b>3.03±1.87</b>
15	ميتلين هكساديكانويك	C17:0 Δ	0.01±0.04
16	هيبنتاديكانويك	C17:0	0.33±0.10
17	اوكتاديكادايونيك	C18:2	0.32±0.41
18	ايزو هيبنتاديكانويك	Ci18:0	0.23±0.28
19	اوكتا ديسيبيك	<b>C18:1</b>	<b>2.89±1.48</b>
20	اوكتاديكانويك	<b>C18:0</b>	<b>18.37±1.83</b>
21	ايزو اوكتاديكانويك	Ci19:0	0.24±0.23
22	انتى ايزو اوكتاديكانويك	Ca19:0	0.98±0.73
23	ميتلين اوكتا ديكانويك	C19:0Δ	0.01±0.02
24	نوناديكانويك	C19:0	1.22±0.42
25	ايكو سانودايونيك	C20:2	0.01±0.02
26	انتى نونا ديكانويك	Ca20:0	0.09±0.16
27	ايكوسيسانويك	C20:1	1.12±0.85
28	ايكوسانويك	<b>C20:0</b>	<b>14.94±4.54</b>
29	ايزو ايكوسانويك	Ci21:0	0.02±0.04
30	انتى ايزو ايكوسانويك	Ca21:0	0.04±0.06
31	هيني ايكوسانويك	C21:0	0.05±0.07
32	انتى ايزو هيني ايكوسانويك	Ca22:0	0.06±0.09
33	دوكاسونويك	C22:0	0.02±0.03
	مجموع الأحماض الدهنية		<b>%98.46</b>

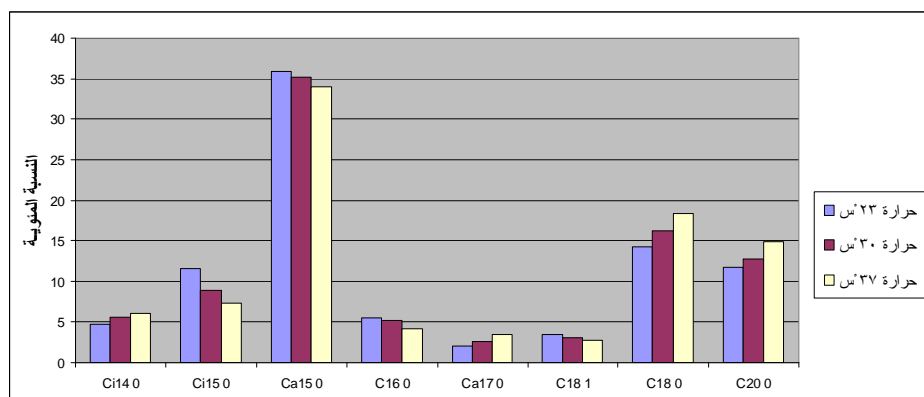
♦-القيمة تمثل متوسط 37 عزلة مدروسة بواسطة بجهاز GC-MS.



## ثانياً- تأثير درجات حرارة التحضين في مكونات نسب الأحماض الدهنية لبكتريا

*Staph. aureus*

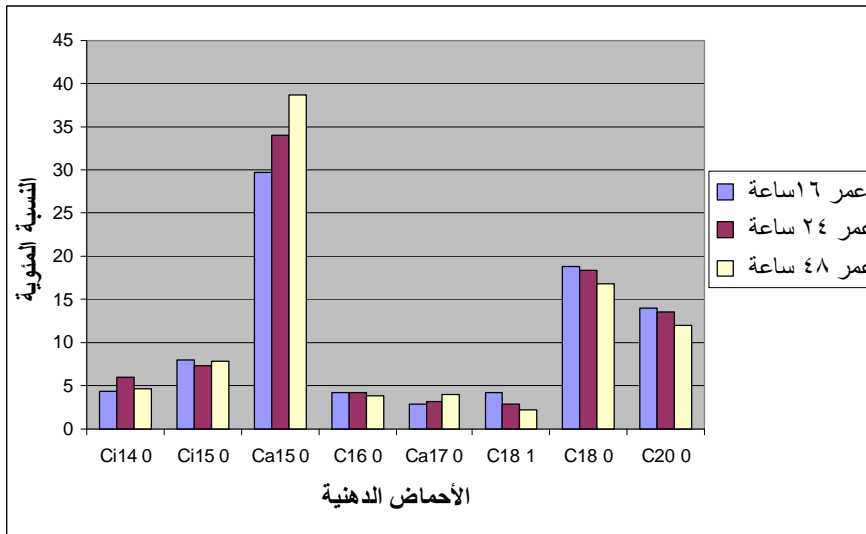
يوضح الشكل (2) انخفاضاً في نسبة الأحماض الدهنية C18:1، C16:0، Ci15:0 و Ca15:0 بلغت 36.34، 24.72%، 22.85% و 5.02% على الترتيب، وارتفاعاً في نسبة الأحماض الدهنية C20:0، Ci14:0، C18:0، Ca17:0 بلغت 27.66%، 28.91%، 27.14% على الترتيب؛ وذلك مع زيادة الحرارة (من 23 إلى 37°س)، وقد أثبتت هذه النتائج أن بكتريا *Staph. aureus* تسلك سلوكاً مختلفاً للتكيف مع انخفاض درجة حرارة التحضين بهدف الحفاظ على سيولة الغشاء (Chihib وزملاؤه، 2003)، ويتضمن هذا السلوك زيادة الأحماض المتفرعة والأحماض غير المشبعة (Landfald و Jostensen، 1996)، وقد تشابهت هذه النتائج مع ما وجدته Weerkamp و Vogels (1978) في دراستهما على تأثير الحرارة في مكونات الأحماض الدهنية لبكتريا *Staph. Aureus*، ومع ما توصل إليه Joyce وزملاؤه (1970) في دراسته على تغيرات تركيب دهن الغشاء الستوبلاسمي. وقد أشار Bolows وزملاؤه (1996) إلى ارتفاع نسبة C18:1 مع انخفاض الحرارة لبكتريا *Staph. aureus*، كما أورد Wada وزملاؤه (1987) ارتفاع نسبة الأحماض غير المشبعة C18:1 و C16:1 مع انخفاض الحرارة من الدرجة 30 إلى الدرجة 15°س لأن درجة انصهارها أقل من الأحماض المشبعة؛ وذلك في دراستهم على بكتريا *Psuedomonas*.



الشكل (2) تأثير درجة حرارة التحضين في النسبة المئوية لأهم الأحماض الدهنية لبكتريا *Staph. Aureus*.

### ثالثاً- تأثير عمر المستعمرة في مكونات نسب الأحماض الدهنية لبكتريا *Staph. Aureus*

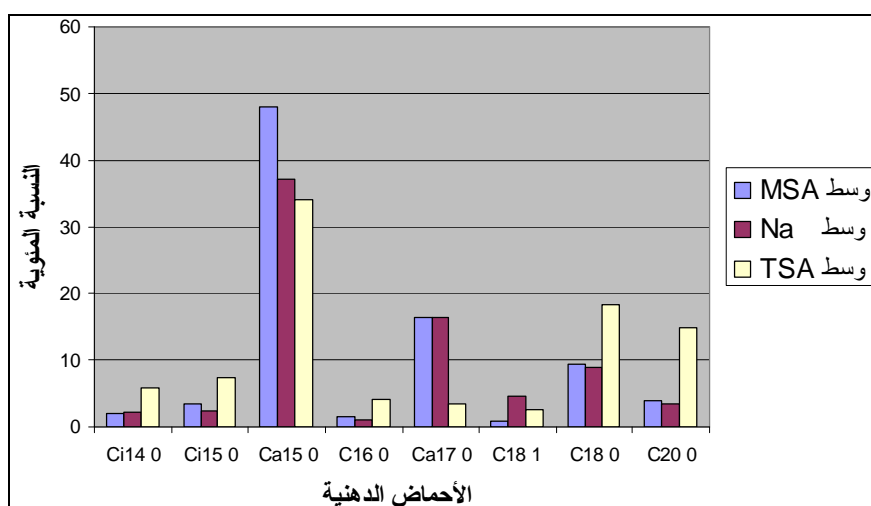
أدت زيادة عمر المستعمرة إلى ارتفاع في نسبة الأحماض الدهنية Ca15:0 و Ca17:0 بلغت 42.85% و 30.40% على الترتيب، مع انخفاض في نسبة الأحماض الدهنية لكل من C16:0 و C18:0، C20:0، C18:1 بلغت 48.9%، 14.28%، 10.63% و 9.52%، كما هو مبين في الشكل (3). وقد لوحظ ارتفاع نسبة Ci14:0 عند عمر 24 ساعة، في حين لوحظ انخفاض في نسبة Ci15:0 عند العمر نفسه، ولم تحدث اختلافات ملحوظة في بقية الأحماض الدهنية، وهذا يتوافق مع ما سجله Wauthoz وآخرون (1995) في بحثهم المتضمن تأثير عمر المستعمرة في تركيب الأحماض الدهنية لبكتريا *Staphylococcus epidermidis*، وقد بينَ Nordstrum (1992) أن الارتفاع في نسبة الحمض الدهني Ca15:0 مع زيادة عمر المستعمرة يشير إلى أن الغشاء يزداد هشاشة مع التقدم بالعمر، وينطبق ذلك أيضاً على بعض أنواع بكتريا *Vibrio* بزيادة نسبة الأحماض الدهنية Ci15:0 و Ci13:0 مع زيادة عمر المستعمرة (Landfald و Jostensen، 1996)، وبيّنَ Drici-Cachon وزملاؤه (2008) انخفاض نسبة الحمض الدهني غير المشبع C18:1 مع زيادة عمر المستعمرة في بكتريا *Leuconostoc*.



الشكل (3) تأثير عمر المستعمرة في نسبة أهم الأحماض الدهنية لبكتريا *Staph. Aureus*

رابعاً - تأثير وسط الزرع في مكونات نسب الأحماض الدهنية لبكتريا *Staph. aureus*

أشارت النتائج إلى أن استخدام ثلاثة أنواع من الأوساط (NA، MSA، TSA) أعطى تبايناً في نسب الأحماض الدهنية، كما هو موضح في الشكل (4) فقد وجد ارتفاع في نسبة الأحماض الدهنية  $Ca17:0$ ،  $Ca15:0$ ،  $Ca14:0$ ،  $Ca16:0$ ،  $Ca18:0$  و  $Ca20:0$  وانخفاض في  $Ca17:0$  و  $Ca18:0$  عند استخدام وسط TSA مقارنة بوسط MSA و NA إذ بلغت نسبة الحمض الدهني  $Ca15:0$  48% عند استخدام وسط MSA مقارنة مع 37% و 34% عند استخدام وسط NA ووسط TSA على التوالي، في حين بلغت نسبة الحمض الدهني غير المشبع  $C18:1$  0.88% فقط عند استخدام وسط MSA مقارنة مع 2.7% و 4.6% عند استخدام وسط TSA ووسط NA على التوالي، وفي المقابل بلغت نسبة الحمض الدهني  $C18:0$  18.4% عند استخدام وسط TSA مقارنة مع 9.3% و 9% عند استخدام وسط MSA ووسط NA على التوالي، وبلغت أيضاً نسبة الحمض الدهني  $C20:0$  14.9% مقارنة مع 4% و 3.6% عند استخدام وسط MSA ووسط NA على التوالي.



الشكل (4) تأثير وسط الزرع في نسبة أهم الأحماض الدهنية لبكتريا *Staph. Aureus*

ويعود التباين في نسب الأحماض الدهنية إلى الاختلاف في تركيب الأوساط فقد أشار Mutnuri وزملاؤه (2005) إلى أن تركيز الملح يؤدي دوراً في تركيب الأحماض الدهنية. إذ تشكل نسبة الملح 7.5 غ/ل في وسط MSA و 5 غ/ل في كل من وسط TSA ووسط NA. كما أشار Wauthoz 1995 وزملاؤه (1995) إلى أن نسبة الغلوكوز قد

أثرت في تركيب الأحماض الدهنية لبكتريا *Staphylococcus epidermidis*. وقد أشار أيضاً Bezbaruah وزملاؤه (1988) إلى أن الغلوكوز أثر في تركيب الأحماض الدهنية لبكتريا *Bacillus stearothermophilus*. كما وجد Veerkamp (1977) أن الفوسفات في وسط TSB أدى إلى نقصان Ca17:0 وزيادة C16:0 خلال دراسته على بكتريا *Bifidobacterium bifidum*، وهذه النتيجة تطابقت مع هذا البحث، كما هو مبين في الشكل (4).

واستنتج أن ثلاثة من الأحماض الدهنية (C20:0 و C18:0 و Ca15:0) شكلت النسبة الكبرى 67.27% من مكونات الأحماض الدهنية لبكتريا *Staph. aureus* البالغة 33 حمضاً دهنيًا. وأدت زيادة درجة حرارة التحضين إلى انخفاض في نسبة الأحماض الدهنية C15:0، C16:0، C18:1 و Ca15:0 وارتفاع في نسبة الأحماض الدهنية Ca17:0، C18:0، Ci14:0 و C20:0. وأدت زيادة عمر المستعمرة إلى ارتفاع في نسبة الأحماض الدهنية Ca17:0 و Ca15:0 وانخفاض في نسبة الأحماض الدهنية C18:1، C20:0، C18:0 و C16:0. وأثر اختلاف نوع وسط الزرع في نسبة الأحماض الدهنية Ca15:0، C20:0، C18:0 بشكل رئيس.

## المراجع References

- Annous, B.A., M. F. Kozempeland M. J. Kurantz. 1999. Changes in membrane fatty acid composition of *Pediococcus sp.* Strain NRRL B-2354 in response to growth conditions and its effect on thermal resistance. *Appl. and environ. Microbio.*, 65(7):2857–2862.
- Behme, R. J., R. Shuttleworth, A. McNabb and W. D. Colby. 1996. Identification of *Staphylococci* with a self-educating system using fatty acid analysis and biochemical tests. *J. clin. Microbio.*, Pp: 3075–3084.
- Bezbaruah, R. L., B. K. G. Pillai and J. Baruah. 1988. Effect of growth temperature and media composition on the fatty acid composition of *Bacillus stearothermophilus* AN 002. *Antonie van Leeuwenhoek* 54:37-45.
- Bowles, B. L., T. A. Foglia and V. K. Juneja. 1996. Temperature induced shifts in the fatty acid profile of *Staphylococcus aureus* WRRRC B124. *J. Rapid Methods & Automation in Microbio.*, 4: 235–245.
- Brown, J. L., T. Ross, T. A. McMeekin, and P. D. Nichols. 1997. Acid habituation of *Escherichia coli* and the potential role of cyclopropane fatty acids in low pH tolerance. *Int. J. Food Microbiol.* 37:163–173.
- Chihib, N. E., M. R. Silva, G. Delattre, M. Laroche and M. Federighi. 2003. Different cellular fatty acid pattern behaviors of two strains of *Listeria monocytogenes* Scott A and CNL 895807 under different temperature and salinity conditions. *FEMS Microbio. Letters* 218, 155-160.
- Drici- Cachon, Z., J. F. Cavin and C. Divi. 2008. Effect of pH and age of culture on cellular fatty acid composition of *Leuconostoc oenos* -*Letters in Appl. Microbio.*, 22(1): 205 - 231.
- Durham, D.R. and W. E. Kloos. 1978. Comparative study of the total cellular fatty acids of *Staphylococcus* species of human origin Jr. *Inte. J. Systematic bacterial*, 223-228.
- Day, O.P. and J. D. Oliver. 2004. Changes in membrane fatty acid composition during entry of *Vibrio vulnificus* into the viable but nonculturable State. *The J. Microbi.*, 69-73.
- Goldman, E. and L. H. Green. 2009. Practical handbook of microbiology. *Staphylococcus aureus* and Related Staphylococci. Taylor and Francis Group, U.S.A. 50-284.
- Joyce, G. H., R. K. Hammond and C. W. David. 1970. Changes in membrane lipid composition in exponentially growing *Staphylococcus aureus* during the Shift from 37 to 25 C. *J. bacterio.*, 323-330.
- Kamimura, K., H. Fusu, O. Akimura and Y. Yamaoka. 1993. Effects of Growth Pressure and Temperature on Fatty Acid Composition of a Barotolerant Deep-Sea Bacterium. *Appl. Environ. Microbio.* 924-926.
- Moroz, .M., R. L. Hvozdiak, L. Chernenko and A. K. Ostapchuk. 2010. Effect of cultivation conditions on fatty acid content of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* lipids. *Microbial.*, 72(3):28-36.

- Nicolaus, B., M. C. Manca, L. Lama E. Sposito and A. Gambacorta. 1995. Effects of Growth Temperature on the Polar Lipid Pattern and Fatty Acid Composition of Seven Thermophilic Isolates from the Antarctic Continent. *J. appl. Microbio.* 18:32-36.
- Nordstrom, K. M. 1992. Effect of growth phase on the fatty acid composition of thermospp. *Arch microbial*, 158:452-455.
- Olson, G. J. and L. O. Ingram. 1975. Effects of temperature and nutritional changes on the fatty acids of *Agmenellum quadruplicatum*. *J. Bacteriol.*, 373-379.
- Ratledge, C., C. A. Boulton. 1985. Fats and oil. In: *Comprehensive Biotechnology*, Blanch HW, Drew SD, Wang Dic, Pergamon Press, Oxford.
- Rees, C. E. D., C. E. R. Dodd, P. T. Gibson, I. R. Booth, and G. S. S. B. Stewart. 1995. The significance of bacteria in stationary phase to food microbiology. *Int. J. Food Microbiol.* 28:263-275.
- Russell, N. J. 1984. Mechanisms of thermal adaptation in bacteria: blueprints for survival. *Trends Biochem. Sci.* 9: 108-112.
- Russell, N. J., R. I. Evans, P. F. Ter Steeg, J. Hellemons, A. Verheul, and T. Abee. 1995. Membranes as a target for stress adaptation. *Int. J. Food Microbiol.* 28: 255-261.
- Sajbidor, J. 1997. Effect of some environmental factors on the content and composition of microbial membrane lipids. *Crit. Rev. Biotechnol.* 17: 87-103.
- Sasser, M. 2001. Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty acids. *MIDI Technical Note*, 101.
- Scherer, C., K. Müller, P. Rath and A. M. Rainer Ansorg. 2003. Influence of Culture Conditions on the Fatty Acid Profiles of Laboratory-Adapted and Freshly Isolated Strains of *Helicobacter pylori*. *J. Clin. Microbiol.*, 1114-1117.
- Schweizer, S. 1989. Biosynthesis of fatty acids and related compounds, In: *Microbial lipids*, C. Ratledge and S. G. Wilkinson (ed.), Academic Press, London, England. vol. 2. Pp: 3-50.
- Singh, V.K., D. S. Hattangady, E. S. Giotis, A. K. Singh, N. R. Chamberlain, M. K. Stuart and B. J. Wilkinson. 2008. Insertional Inactivation of Branched-Chain  $\alpha$ -Keto Acid Dehydrogenase in *Staphylococcus aureus* Leads to Decreased Branched-Chain Membrane Fatty Acid Content and Increased Susceptibility to Certain Stresses. *Appl. Environ. Microbiol.* 74(19):5882.
- Suutari, M., and S. Laakso. 1994. Microbial fatty acids and thermal adaptation. *Crit. Rev. Microbiol.* 20:285-328.
- Veerkamp, J. H. 1977. Effects of growth conditions on lipid composition of *Bifidobacterium bifidum* subsp. *Pennsylvanicum*. *Antonie van Leeuwenhoek* 43:101-110.
- Wada, M., N. Funaga and S. Sasaki. 1987. Effect of growth temperature on phospholipid and fatty acid compositions in a Psychrotrophic Bacterium, *Pseudomonas* sp. Strain E-3. *Plant Cell Physiol.* 28(7): 1209-1217.
- Wang, Y., G. Corrieu and C. Be´al. 2005. Fermentation pH and Temperature Influence the Cryotolerance of *Lactobacillus acidophilus* RD758. *J. Dairy Sci.*, 88:21-29.

- Wauthoz, P., M. El lioui and J. Decallone. 1995. Gas chromatographic analysis of cellular fatty acids in the identification of foodborne bacteria. *J. food protect.* 58(11): 1234-1240.
- Weerkamp, A. and G. D. Vogels. 1978. Physiological conditions affecting *Staphylococcus aureus* susceptibility to Staphylococin 1580. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 146-153.
- Zarnoski, R., R. J. Ellis, T. Lewicka and S. J. Pietr. 2004. Effect of age on the fatty acid composition of the *Bacillus subtilis* po270 isolated from wheat rhizosphere. *Polish j. microbial.*, 53(4): 267-272.

Received	2012/07/01	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2012/11/07	قبول البحث للنشر