وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسيه / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

# دراسة التنظيم الحيوي لمركبات البولي الاثلين باستخدام بكتريا معزوله من التربه .

# Biodegradtion of polyethelenes by bacterial isolated from the soil .

بحث مقدم الى مجلس قسم علوم الحياة / كلية العلوم

من متطلبات نيل شهادة البكلوريويس علوم حياة

يقدمه الطالب ( قاسم كريم عبد مظلوم )

بأشراف : الاستاذه . ضحى مهدي

بسم الله الرحمن الرحيم

((وما أوتيتم من العلم الا قليلا ))

صدق الله العلي العظيم

# الإهداء

الى سادات البشر وأل بيته الطيبين الطاهرين .

الى من هو سبب وجودي في هذا العالم والدي .

الى من ضحت وكانت ملجئي في كل الملمات والدتي العزيزه اطال الله عمرها .

الى من كان يساندني ويعاضدني وتتحمل معي الهموم زوجتي الغاليه .

الى جميع اساتذتي الافاضل والى جميع زملائي في كلية العلوم قسم علوم الحياة .

**اهدي لكم هذا المجهود المتواضع**

# شكر وتقدير

الحمد لله والحمد حقه كما يستحقه حمدا كثيرا وصلى الله على سيد الكونين وخاتم الانبياء والمرسلين ابى القاسم محمد وعلى اله بيته الطيبن الطاهرين

اما بعد :-

فلا يسعني الا ان اتقدم بعظيم الشكر والامتنان استاذتي الفاضله (( ضحى مهدي)) لاقترحها موضوع البحث والاشراف عليه . واقدم خالص شكري و تقديري الى جميع اساتذتي الافاضل والى جميع زملائي في كلية العلوم قسم علوم الحياة . ولا يفوتني ان اتقدم بعظيم الشكر والامتنان الى جميع كادر مختبر مستشفى القاسم العام وبالخصوص منتسبي وحدتي الاحياء المجهريه لما قدموه لي من المساعده والتوجيهات القيمه وكذلك اشكر التقني اختصاص تحليلات مرضيه وليد حسن عبادي والبكترولوجي حسين حمزه السوراوي لمساعدتي في كتابة بحثي .

**وتقديري الخالص لكل من ساهم في انجاز البحث.**

# الخلاصه

يلعب البولثين دورا هاما في تغليف السلع والمواد الغذائيه والادويه واكياس القمامه .....الخ.

وهنالك العديد من طرق تحلل البولثين المتاحه لكن الطريقه الصديقه للبيئه هي استخدام الميكروبات . في هذه الدراسه او البحث نتناول العزل وتحديد والتحقق وتحلل البولثين المعامل من قبل الكائنات الدقيقه , التي تم الحصول عليها وعزلها من التربه .

تم انتشال مجموعة (15) بكتريا من مناطق مختلفه (3) منها اظهرت نتائج موجبه قادره على تحلل البولثين وتمثلت ببكتريا *Bacillus sp, Pseudomonas sp,Staphylococcus.*

حيث استخدمت قطع من البولثين مختلفه السمك بين (10 – 40 ) مايكروميتر .. وكانت النتائج كالتالي :

بكتريا *Bacillus sp* حللت البولثين بنسبة 42.5%

بكتريا *Staphylococcus* حللت البولثين بنسبة 20%

بكتريا *Pseudomonas sp* حللت البولثين بنسبة 7.5 %

ويمكننا ان نستنتج انه قد يكون *Bacillus sp.* بمثابة حل للمشكله الناجمه عن البولثين في الطليعه وان هذا الميكروب له القدره الكافيه على تحطم او تحلل البولثين مع مرور الوقت .

# المقدمه

(1) **: المقدمه :**البولثين او البلاستك من المواد الضروريه للاستخدام المختلف في حياتنا اليوميه فهي تسبب تلوث البيئه عن طريق تراكمها في البيئه وطبيعتها المستقره .

في معظم البلدان يتم اعادة تدوير وادارة النفايات بعملية التحلل البايلوجي والتي تشمل كائنات دقيقه مثل البكتريا والفطريات .

عمليات التحلل البايولوجي للبولي اثلين هو الاتجاه القادم في هذا المجال من خلال الانشطة الانزيمية التي تؤدي الى انهيار البوليمر Polymer الى مونمر Monomers و Oligamers تليها الايض من قبل الخلايا الجرثومية.

الايض الخلوي الهوائي ناتج عنه carbon dioxide وماء water اما الايض الاهوائي نواتجه CO2 وماء وميثان .

**(2): نبذه تاريخيه :**

**(1-2): نبذه تاريخيه عن بكتريا جنس *Bacillus***

**يمتلك جنس *Bacillus* تاريخا طويلا اذ اكتشف منى قبل Ehrenbrg في عام 1835 م واطلق عليه vibro subtilis تم سميه Bacteridium من قبل Davaine وينمي هذه الجنس الى عائلة Bacillaceae والتي تظم العديد من الاجناس يتصف جنس ال Bacillus بخلايا عصوية الشكل مستقيمه او منحنية قليلا وتكون موجبه لصبغة كرام في بداية مراحل النمو , هوائيه او لاهوائية اختياريه والقليل من انواعها تشبه البكتريا الاهوائية معظم انواعها لا تحتاج الى اوساط معقده الى النمو وتنمو على الاوساط الاعتيادية مثل الوسط المغذي الصلب واكار الدم وتعزل هذه البكتريا من التربة وبعض البيئات الاخرى مثل الماء والغذاء والعيناة الطبية .**

***pseudomonas aeruginosa* (2-2)**

**تعد بكتريا *pseudomonas aeruginosa* من اكثر انواع البكتريا استخداما على النطاق التجاري. وهي بكتريا عصويه سالبه لصبغة كرام هوائيه تنتشر بشكل عام في التربه والماء ولها القدره على انتاج اصبغه ملونه بلون اخضر مزرق او بلون اخضر مصفر او بني محمر . ليس لها**

**متطلبات نمو خاصه ودرجة حرارة النمو المثاليه 37 م تتميز بكتريا**

***pseudomonas aeruginosa*** **بتطوير مقاومتها الى المضادات**

**الحيويه بسبب الاستعمال المفرط او الغير منتظم لهذه البكتريا**

(3-2) **المكورات العنقوديه :** تعد المكورات العنقوديه الذهبيه من اهم الانواع في عائلة المكورات من الناحيه الطبيه وتتميز بانها واسعة الانتشار في الطبيعه , اذ تتواجد في الهواء والتربه وفي الاغشيه المخاطيه والجلد والقناة التنفسيه العليا والقناة الهضميه في الانسان . يعتبر نوع Staphylococcus aureus بانه اكثر الانواع المكورات العنقوديه امراضيه على الرغم من ان كون جزء منها من الفلورا الطبيعيه Normal flora الا انه تتميز في قدرتها على اخماج الجلد البسيط الى الامراض الجهازية المهددة للحياة .

# المواد وطرق العمل

**المواد : وتشمل**

**1 - الاوساط الزرعيه مثل N.A و B.A و M.A**

**2 -قطع البولي اثلين**

**3 -اطباق بتري**

**4 -سرنجات**

**5 -ماء مقطر**

**6 -تيوب**

**الاجهزه : وتشمل**

**1 -حاضنه**

**2 -ميزان حساس**

**3 - لهب ناري**

**4 -دورق**

**5 - جهاز AUTOCLAVE**

**طرق العمل : وتشمل جمع العيناة وعزل البكتريا .**

# طرق العمل والعزل

جمع العينات : عينات تربه تم جمعها من مساحات ومناطق مختلفه ( مستشفى , محطة بنزين , منطقه محليه )

عزل البكتريا : يؤخذ 1 غم من التربه وتوضع في Conical Flask حاوي على 99 مل من الماء المقطر مع المزج .

تنمى البكتريا على وسط Nutrient agar وتعزل لبكتريا عن طريق النشر .

تقطع شرائح البولثين 3x3 سم ووضعها في وسط agar . بعدها يتم حضن النماذج لمدة 24hr ولوحظ نمو البكتريا على شريط البولثين .

بعدها يتم نقل البولثين اللى دورق ماء مقطر ويتم غليه لمدة ساعه .

توضع شرائط البولثين المغسوله في محلول ايثانول تركيزه 70% لمدة نصف ساعه للتعقيم .

بعدها توضع هذه الشرائط المعقمه في قاروره تحوي 50مل من المرق المغذي الملقح بالبكتريا ( 0.5 مل ) ووضعها في هزاز و تترك لمدة 10 يوم و 20 يوم و 30 يوم و 40 يوم ويحسب وزن الشرائط بعد كل حضن .

الوزن المفقود % = الفرق بين الوزن الاولي والنهائي / 100

# النتائج

1 - تم جمع 15من مناطق مختلفه وتوزعت هذه المناطق بين مستشفى ومحطة بنزين

2 - لاحظنا خلال زرع العينات وجدان ( 8 ) نتائج موجبه فقط . وكانت النسبه الاكبر في محطة البنزين وتملث ( 5 ) عينات وبنسبة متوسطة كانت في المستشفى وتمثلت (2) وواحدة في المنطقه المحليه

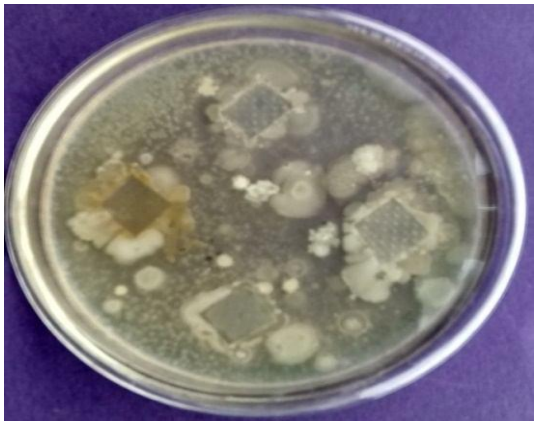
| S. No. | Area | Numbers of positive isolates | Zone of clearance |
|---|---|---|---|
| 1 | H | 2 | ++ |
| 2 | P | 5 | +++ |
| 3 | L | 1 | + |

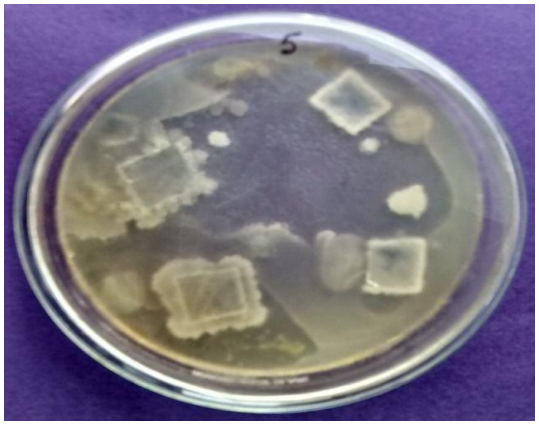
**Where H- Hospital, P- Petrol pump and L - Local area**

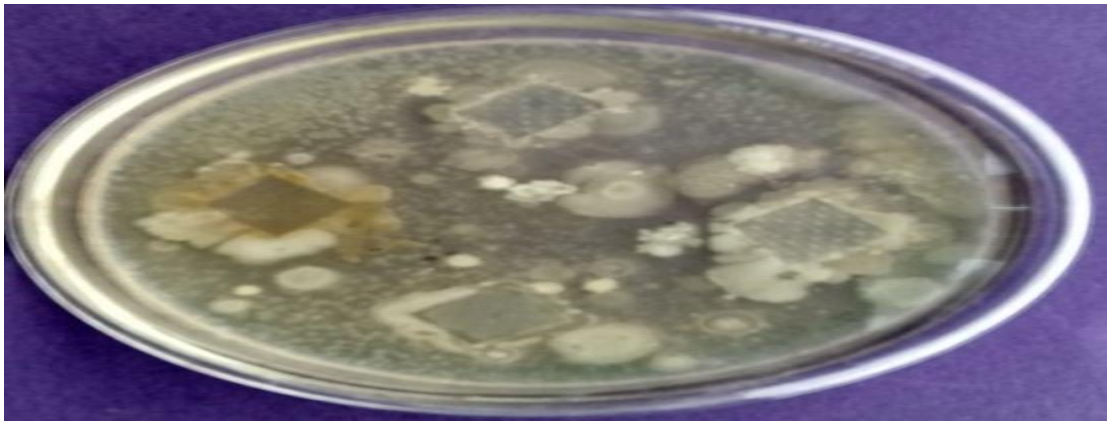
+ + + - maximum clearance.

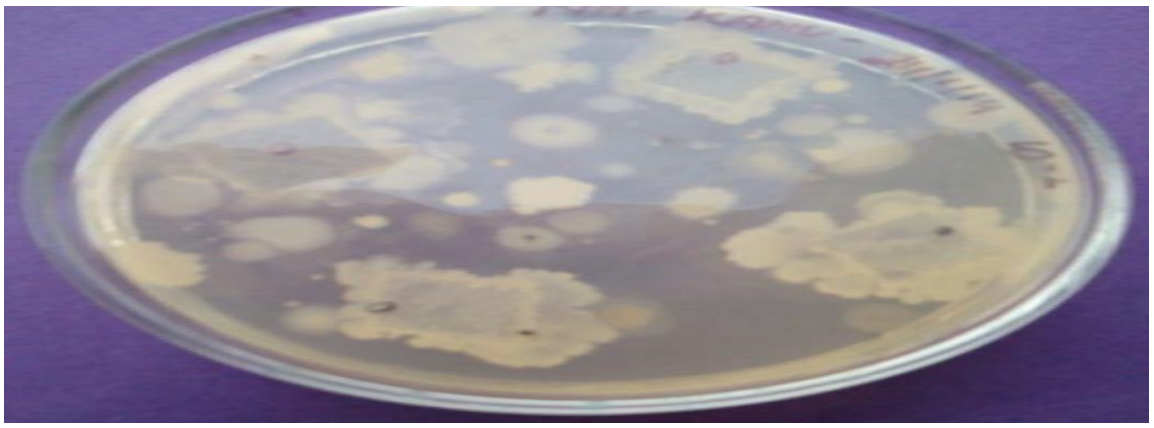
+ + - moderate clearance.

+ - minimum clearance.




5





# المناقشه

تلعب الكائنات الحيه الدقيقه دورا حيويا في التحليل البايلوجي بمافي ذلك البوليمرات الصناعيه في الطبيعه وهنالك فئتين من الانزيمات في هذه العمليه خارج الخليه وداخل الخليه من عليه البلمره تقوم الكائنات الحيه الدقيقه بتكسير البوليمرات المعقده الى جزيئات صغيره وسلاسل قصيره عللى سبيل المثال Oligomers و Dimers وكلاهما يستخدم كمصدر للكاربون والطاقه .

نسبة التحليل للبوليثلين تتناسب طرديا في زيادة حجم البوليثين والبلاستك الصناعي هو الاكثر استخداما والذي يتحلل ببطىء مما يسبب بمشاكل بيئيه .

# المصادر

1. Augusta, J., R.J. Muller and H. Widdecke, (1993). A. rapid evaluation plate-test for the biodegradability of plastics. Appl. Microbiol. Biotechnol., 39: 673-678.

2. Bhardwaj H., Gupta R., Tiwari A. (2012), Microbial Population Associated With Plastic Degradation, Scientific Reports, 5: 272-274.

3. Cappuccino J.G., Sherman N., (1996), Microbiology- a laboratory manual, 159- 201.

4. El- Shafei, HA; El-Nasser, NHA; Kansoh, AL; Ali,AM (1998). Biodegradation of disposable of disposable polyethylene by fungi and Streptomyces species. Polymer Degradation and Stability ;62:361-365.

5. Frazer AC,(1994), O-methylation and other transformations of aromatic compounds byacetogenic bacteria. In: Drake HL, editor. Acetogenesis. New York:Chapman& Hall; p. 445-83.

6. Gnanavel G., Valli V. P. M. J., Thirumarimurugan M., Kannadasan T. (2012), Degradation of Plastics Using Microorganisms. Inter J of Pharmaceutical and Chemical Sciences, 1: 691-694.

7. Gu, J.D. (2003), Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials. Res.Adv. Int. Biodeterior. Biodegrad. 52: 69-91.

8. Gu, J.D., Ford, T.E., Mitton, D.B. and Mitchell, R. (2000), Microbial degradation and deterioration of polymeric materials, W. Revie (Ed.), TheUhlig Corrosion Handbook (2nd Edition), Wiley, New York. 439–460.

9. Hamilton, J.D., Reinert, K.H., Hogan, J.V. and Lord, W.V. (1995), Polymers as solid waste in municipal landfills. J Air Waste Manage Assoc, 43: 247–251.

10. Hemashenpagam N, Growther L., Murgalatha N., Raj V.

S.,Vimal S. S. (2013), Isolation and characterization of a bacterium that degrades PBSA. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 4: 335–342.

11. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams, (1994), Gram-Positive Cocci. In:Bergey's Manual of Determinative Microbiology, Hensyl, W.R. (Ed.). 9th Edn., Williams and Wilkins,

12. Jayasiri H. B., Purushothman C. S., VennilaA. (2013), Plastic litter accumulation on high-water strandline of urban beaches in Mumbai, India. Environ Monit Assess, 185: 7709-7719.

13. Lee, B., Pometto, A.L., Fratzke, A. and Bailey Jr., T.B.(1991), Biodegradation of degradable plastic polyethylene by Phanerochaete and Streptomyces species. Appl. Environ.Microbiol. 57: 678-685.

14. Shimao M. (2001), Biodegradation of plastics. Current Opinion in Biotechnology ;12:242-247.

15. Sowmya,H.V., Ramalingappa.,Krishnappa, M. and B. Thippeswamy,(2014),Biodegradation of Polyethylene by Bacillus cereu,Advances in Polymer Science and Technology: An International Journal,4(2): 28-32.

16. Starnecker, A; Menner, M (1996),Assessment of biodegradability of plastics under stimulated composting conditions in a laboratory test system.Int.Biodeterior.Biodegrad. 85 - 92.

17. Usha R., T. Sangeetha and M. Palaniswamy, (2011), Screening of Polyethylene Degrading Microorganisms from Garbage Soil,Libyan Agriculture Research Center Journal International 2 (4): 200-204

18. Vatsel D and Anbuselvi S, (2014), Isolation and Characterization of Polythene Degrading Bacteria from Polythene Dumped Garbage, Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 25(2), Mar – Apr 2014; Article No. 38, Pages: 205-206

19. Yang H-S, Yoon J-S, Kim M-N.(2005) Dependence of biodegradability of plastics in compost on the shape of specimens. Polymer Degradation and Stability; 87:131-135.