جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة

تعيين بعض الظروف الزرعية لأنتاج انزيم السليليز والكحول الأثيلي من بعض انواع البكتريا المعزولة من التربة

رسالة مقدمة الى مجلس

كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة – الأحياء المجهرية

من قبل

عبدالستار عبدالجبار ابراهيم

بكالوريوس علوم الحياة / 2011-2012

بإشراف

أ.د. عدنان نعمة عبد الرضا العزاوي

أ.م. د أنيس عبدالله كاظم

1436هـ **كانون الاول**

2014م **ربيع الاول**

الفصل الأول : المقدمـــة

1-1 المقدمـــــة Introduction

للاحياء المجهرية أثر مهم في تدوير المركبات العضوية وغير العضوية في البيئة وهذا التدوير يشتمل على المركبات المتراكمة مثل الكاربوهيدرات ، والدهون ، والبروتينات ، والمعادن لذا فأن كثيراً من العلماء بذلوا جهداً علمياً من اجل تشخيص تلك الاحياء والافادة منها مختبرياً وحقلياً واصبحت تلك تقنية شائعة على النطاقين المحلي والعالمي اذ لايمكن البت او الموافقة على انشاء مدن حديثة الا بتصميم نظام تدوير لتلك المخلفات والافادة منها بعد ان كانت تشكل ضرراً بيئياً ، من الاحياء المجهرية المستخدمة في تدوير المركبات في البيئة والحصول على نواتج مختلفة يمكن الافادة منها هي *Escehrichia coli,Pseudomonas aeruginosa* *التي* تستطيع النمو تحت الظروف اللاهوائية للتخمر منتجة النواتج الاتية

acetate و succinate و lactate و ethanol (Raghavulu واخرون، 2010).

انتج الوقود الحيوي في البرازيل والولايات المتحدة وبلدان اخرى من مصادر سليلوزية مختلفة مثل الذره وقصب السكر باستخدام *Sacchromysis cervisia* و Micro algae .

(Percy ، 2007) ، وانتج في دمشق من المخلفات الزراعية والصناعية باستخدام البكتريا *Erwinia*، *Xanthomonas*، *Bacillus* (غانم واخرون ، 2011) ، ان الوقود الحيوي هو الوقود السائل او الصلب او الغازي الذي ينتج بصوره رئيسية من الكتلة الحيوية biomass المتجددة والمستديمة ، ويعتبر الوقود الحيوي من اهم انواع الوقود في المستقبل ، لانه بديل عن الوقود الاحفوري (الخام) ويختلف عنه بوصفه غير ملوث ومتوافر محلياً اذ يمكن انتاجه بسرعة

وكذلك يمكن استخدامة في النقل وانتاج الكهرباء وتوليدها (Demirbas،2009). اما الايثانول الحيوي bioethanol هو وقود ينتج من مصادر حيوية مختلفة وخصوصآ النباتات مثل الحنطة ، والذرة ، والخشب و انتاجه من الكتلة الحيوية الغنية بالسليلوز يكون احدى الطرائق التي من خلالها يمكن تقليل من استهلاك الوقود الخام وتلوث البيئة وانبعاث غازات البيت الاخضر(الاحتباس الحراري) مثل غاز ثاني اوكسيد الكاربون واكاسيد النتروجينية الاحادية والثنائية (Balat واخرون،2008). ان تغير المناخ وندرة مصادر الطاقة التقليدية في بعض مناطق العالم دعت الباحثين الى ايجاد وسائل بديلة، جميع تلك العوامل ادت الى زيادة النتاج العلمي الخاص بالبحث عن انتاج الوقود الحيوي. وفي نهاية عام 1990 كان انتاج الايثانول العالمي بتزايد من خلال تطور ابحاث التطفير الخاصه بجينوم الكائنات الحية وتحسين تقنيات كفؤة ، كما ان تزايده ادى الى التركيز على استخدام انزيمات السليليز في عملية التدوير الحيوي للمركبات العضوية وغير العضوية اضافة الى استخداماتها المهمة في المجالات الصناعية، والغذائية ، والدوائية، اذ ظهر الوقود الحيوي باجيال عدة 1- الجيل الاول يتضمن انتاج الايثانول من تخمير السكريات والنشويات من المحاصيل الغذائية النباتية بوساطة الخمائر 2- الجيل الثاني يتضمن انتاج الوقود الحيوي من المواد الاولية غير الغذائية Lignocellulose biomass من خلال التحلل الانزيمي او الكيميائي في عمليات مختلفة 3- الجيل الثالث يتضمن توظيف الكائنات الدقيقة المنتجة للانزيمات الى تحلل البوليمرات النباتية كالسليلوز وتخمر السكريات الناتجة (Percy، 2007) .

2-1 الهدف من الدراسة: Aim of study

ان الهدف الرئيس للدراسة الحالية هو البحث عن انواع من البكتريا القادرة على انتاج الوقود الحيوي اذ يتحقق هذا الهدف من خلال :

1- عزل بعض انواع البكتريا الهوائية واللاهوائية وتشخيصها والتي تكون من بيئات مختلفة ذات علاقة بتحليل المواد العضوية مثل السليلوز .

2- مقارنة قدرتها او كفائتها على انتاج الوقود الحيوي باستخدام نظام محدد النمو

3- مقارنة قدرتها على انتاج انزيم السليليز وايجاد الفعالية الانزيمية المثلى

4- انتاج الكحول الاثيلي وتحديد التركيز الامثل المنتج من البكتريا تحت الدراسة .

Abstract

The study included isolate and diagnose of some types of anaerobic and aerobic bacteria capable of decomposing and fermentation of cellulose. Isolation and diagnose the bacteria *Clostridium phytofermentous* from 10 agricultural soil samples, was 50 % of the total 50 colony, while isolation of *Escherichia coli* from 15 waste water samples which represented 40% of the total 75 colony and isolated *Pseudomonas aeruginosa* from 15 normal soil samples, and was 53% of the total 75 colony. production of cellulase enzymes was evaluated by using absorbance method. Higher activity obtained via *Clostridium phytofermentous* with maximum value of 42.8 IU / mL, while *Pseudomonas aeruginosa* gives 12.5 IU / mL and *Escherichia coli* gives 29.1 IU / mL.. Optimum temperature was 35 C and pH 7, for production cellulose enzyme The concentration of ethanol Alcohol was measured by using Titration method. Maximum concentration of ethanol alcohol produced by *Escherichia coli*, which reached 8.28 g/liter, while *Pseudomonas aeruginosa* was 7.86 g/liter, and *Clostridium phytofermentous* reached 6.62 g/L.