استمارة مستخلصات رسائل واطاريح الماجستير والدكتوراه في جامعة البصرة

الكلية: الزراعة **اسم الطالب: شيماء ذياب جدوع حسن السهلاني**

القسم: علوم الأغذية **اسم المشرف:د.آمال كاظم غضبان الاسدي**

التخصص: تقنية حياتية **الشهادة : الدكتوراه**

عنوان الرسالة أو الأطروحة

إنتاج البلاستيك المتحلل حيويا (متعدد هيدروكسي البيوترات) من العزلة المحلية *Bacillus cereus* B5 وتطبيقه في تعبئة بعض الاغذية

تم الحصول على 43 عزلة بكتيرية محلية بعد المعاملة الحرارية لمصادر مختلفة جمعت من مناطق تابعة لمحافظة البصرة تضمنت الخضروات : (الكرفس وكراث و الفجل واللهانة والحلبة والمازة والسبانخ والجزر والخيار والطماطة والرشاد واللفت (الشلغم) والنعناع والبطاطا والخس والباذنجان والقرنابيط والشوندر والشبت والكزبرة والفلفل البارد) والفواكه تضمنت (التفاح و الموز) وأغلفة عرنوص الذرة الصفراء. وكذلك استعملت المعجنات (كعك) والبقوليات التي شملت (اللوبياء وجريش فول الصويا والحمص). كما اختيرت مجموعة عينات من الترب توزعت على خمس عينات من أماكن مختلفة لمدينة أم قصر وعينتان من تربة قضاء أبي الخصيب وعينة من تربة كلية الزراعة وعينة من تربة منطقة ساحة سعد وعينة من تربة أهوار قضاء المدينة وعينة من الرمل والسماد الحيواني وجلبت عينات من نبات القصب ونبات البردي من أهوار قضاء المدينة ،وعينة من الحليب وماء الإسالة وماء المجاري.

غربلت العزلات البكتيرية غربلة أولية على أساس الاصطباغ بصبغة Sudan black B واختيرت 22 عزلة الاكثر اصطباغاً ، تم تشخيصها بإجراء الفحوصات التشخيصية التي شملت الفحوصات المجهرية والاختبارات الكيموحيوية وكانت جميعها عائدة لجنس Bacillusوتوزعت 4 عزلات تعود لبكتريا *Bacillus subtilis* و4 عزلات Bacillus cereus و 3 عزلات *Bacillus megaterium* وعزلتان *Bacillus lichenformis*وعزلتان *Bacillus firmus* و4 عزلات *Bacillus mycoides* و3 لبكتريا. *Bacillus pumilus* أجريت الغربلة الثانوية لتلك العزلات على أساس إنتاجها لمتعدد هيدروكسي البيوتراتPHB وأعطت العزلة B5 *Bacillus cereus* أعلى أنتاج من PHB والذي بلغ 2.4 غم \ لتر. تم تأكيد عائدية العزلة B5 من خلال اختبار 16 rRNA Sكما شخص المورث المسؤول عن إنتاج PHB في العزلة المنتخبة. كان أفضل إنتاج لمتعدد هيدروكسي البيوترات من العزلة المحليةB5 Bacillus cereus عند درجة حرارة 35 م وحجم لقاح 2% ودالة حامضية 7 ومدة حضن 48 ساعة مع التهوية باستعمال الحاضنة الهزازة بسرعة150 دورة \ دقيقة ووسط الإنتاج المستعمل المحتوي على1% كلوكوز كمصدر كاربوني والبيتون كمصدر نتروجيني إذ بلغ الناتج 6.2 غم \ PHB لتر وكتلة حيوية بمقدار 8.4 غم \ لتر بحصيلة 73.8%. وكانت 3% أفضل نسبة استبدال للمادة البديلة للمصدر الكاربوني (عصير التمر) إذ أعطت ناتجاً منPHB مقدار 7.11 غم \ لتر وبحصيلة 79.%

أظهر التحليل بتقنية FT-IR وجود مجموعة الاستر عند 1723.81 سم-1 لمتعدد هيدروكسي البيوترات الناتج من وسط عصير التمر مما يؤكد أنه من البوليمرات الإسترية وقد شخص12 مركب تمثل نواتج تحلل PHB بتقنية GC-MSوكانت تمثل سلاسل قصيرة من الاحماض الدهنية. إتصف متعدد هيدروكسي البيوترات المنتج من العزلة المحلية B5 *Bacillus cereus* المنماة في وسط عصير التمر بأن درجة حرارة تحلله كانت312 م والنسبة المئوية لتبلوره 60 % وبلغ وزنه الجزيئي 423.674 كيلو دالتون وكانت نفاذيته لبخار الماء 56.2 ×8-10 غم \ باسكال. ثانية. م2 في حين بلغت قوة الشد 24.9 ميكا باسكال وأن أضافة المادة الملدنة متعدد أثيلين كلايكول زادت من النسبة المئوية للاستطالة بزيادة تركيز الملدن إذ بلغت 8.7% عند تركيز 40 % من المادة الملدنة كما لم يظهر أي تأثير سام لمتعدد هيدروكسي البيوترات في دم الإنسان إذ لم يظهر أي تكتل أو تخثر بعد ساعة من الحضن .

تمت دراسة التحلل الحيوي للغشاء PHB المنتج باستعمال طريقة الزرع بأطباق بتري لتمنية عزلات بكتيرية هي*Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus*وكانت جميعها قادرة على تحلل غشاء PHB المنتج .كما درس تحلل غشاء PHB المنتج من الوسط القياسي ووسط عصير التمر باتباع طريقتي الطمر بالتربة وتركه على سطح التربة. أخيراً تم تطبيق متعدد هيدروكسي البيوترات PHB المنتج في تعبئة بعض الاغذية بعد عمل أكياس منه ودراسته كمادة حافظة لكل من ثمار الفراولة والعنب والمنتوج اللبني الزبد لمدة15 يوم خزن ومقارنته مع أكياس متعدد الاثيلين ،إذ أظهرت أكياس PHB تفوقاً على أكياس متعدد الاثيلين من حيث صفات الأغذية المظهرية والميكروبية والكيميائية.

College: Agriculture **Name of student : Shayma Thyab Gddoa Al-Sahlany**

Dep. : Food Science **Name of supervisor: Dr. Amal Kadhim Al-Asady**

Certificate : Doctorate **Specilization : Biotechnology**

Title of Thesis

Production of Biodegradable Plastic (Polyhydroxybutyrate) by the Local Isolate of *Bacillus cereus* B5 and Using in Packaging of Some Foods

Forty three local bacterial isolates were obtained after heating treatment for different sources collected from many places in Basra government. Included: **Vegetables** (Celery, Leek, Radish, Cabbage, Fenugreek, Jerusalem Artichoke, Spinach, Carrot, Cucumber, Tomato, Lepidium, Turnip, Mentha, Potato, Lettuce, Eggplant, Cauliflower, Beta vulgaris, Dill, Coriander and Bell pepper), **Fruit** (Apple and Banana), Covers maize, Pastry (cakes), **Legumes** (Cowpea, soybean meal and chickpeas), **Soils** (5 samples of Umm Qasr , 2 samples of Abu Al-Khaseeb and a sample of each of Agriculture college, Saad Square, Marshes of Al- Midaina city and Sand) Animal manure, The sample of each of the plant reeds, papyrus plant , milk and water liquefaction and sewage water. Primary screening for the isolates by Sudan black B dye only. 22 isolates were chosen with strong staining, and the identification of all the isolates revealed were belong to genus *Bacillus* by studying microscopic and biochemical tests. They were: 4 isolates *Bacillus subtilis*, 4 isolates *Bacillus cereus*, 3 isolates *Bacillus megaterium*, 2 isolates *Bacillus lichenformis* 2 isolates *Bacillus firmus*, 4 isolates *Bacillus mycoides* and 3 isolates *Bacillus pumilus*.

Secondary screening of these isolates was Polyhydroxybutyrate (PHB) produced, *Bacillus cereus* B_5 given 2.4 g / L the highest production of PHB. A PCR technique was used for 16S rRNA test and detecting the gene of PHB production in *Bacillus cereus* B_5.

The highest PHB production from *Bacillus cereus* B_5 was 6.2 g / L, biomass 8.4 g / L and yield 73.8% the by using optimum conditions: incubation temperature 35̊ C, for 48 hours aerobically by using shaking incubator for 150 RPM/ min, 2% inoculum volume, the pH was adjusted to 7, and the production media where contained 1% glucose as carbon source and peptone as a nitrogen source. 3% have dated juice was the best substitute for glucose as carbon source, it gave 7.11 g PHB / L and the yield 79 %. Analysis with FT-IR was showed, that PHB produced from date juice media had a peak at 1723 cm^{-1} this means it belong to an ester polymers group. And GC-MS showed 12 compounds produce from analyzing PHB as short chains of fatty acids.

The properties of PHB produced from date juice media were: The degradation temperature was 312̊ C, the percentage of crystallization was 60%, molecular weight was 423.674 KDa., permeability of water vapor was 56.2×10^{-8} g / Pa.s.m^2, tensile strength was 24.9 MPa, the blend 40% polyethyleneglycol as plasticized with PHB increased the percentage of elongation to 8.7%. PHB is non-toxic and without hemolysis on human blood.

Studying biodegradation of the plastic films of PHB by using bacterial isolates were *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in petri dish showed that all isolates can degrade PHB, biodegradation in soil and at soil surface was 100% after 28 days.

PHB packages increased the shelf life of strawberries and grapes after storage for 15 days, compared with polyethylene packages, and It was reduced the numbers of microorganisms in butter, the percentage of free fatty acids and peroxide value compared with butter with polyethylene after 15 days.