

تحديد بعض خواص السيليلوز البكتيري المنتج من عصير التمر ودراسة بعض العوامل المؤثرة في مسامية وسمك الأغشية السيليلوزية

سنان محمد جاسم المالكي
كلية الزراعة / جامعة بغداد

إلهام إسماعيل

الخلاصة :

نفذت التجربة في مختبر التقنية الحيوية التابع لقسم علوم الأغذية / كلية الزراعة / جامعة بغداد ، في سنة 2012 لدراسة بعض الخواص المهمة للسيليلوز المنتج من بكتريا *A. xylinum. SA1* ، وهي سمك غشاء السيليلوز ، وقابليته على حمل الماء ، ودراسة مساميته ، وقوة الشد ، وقياس درجة البلورة من خلال فحص (X-ray) ومقارنته مع السيليلوز النباتي وتحليل طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) للتأكد من هويته. حيث أوضحت النتائج ان سمك الغشاء بلغ 3.3 ملليمتر ، وقابليته على حمل الماء كانت عالية مقارنة بالسيليلوز من مصدر نباتي ، ومساميته بلغت 49% ، وقوة شده بلغت 1.2 ميكاباسكال ، وكذلك اتضح ان السيليلوز البكتيري هو أكثر بلورة من السيليلوز النباتي وبمعامل بلورة بلغ أكثر من 60% ، وعند تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) للسيليلوز البكتيري للتأكد من هويته وجد مطابقة الشكل لطيف الأشعة تحت الحمراء للسيليلوز المأخوذ من موسوعة أطيف الأشعة تحت الحمراء للمركبات الكيميائية . كما ودرس تأثير أوساط زرعية مختلفة على كمية السيليلوز ووزن الخلايا الجاف وعلى مسامية وسمك الأغشية السيليلوزية الناتجة ، ودرس تأثير حجم اللقاح ومدة الحضان و تركيز القاعدة المستخدمة في تنقية الغشاء السيليلوزي ، وطريقة التجفيف على مسامية الغشاء السيليلوزي فوجد تأثرهما الواضح باختلاف تلك العوامل .

IDENTIFY SOME OF THE PROPERTIES OF BACTERIAL CELLULOSE PRODUCED FROM DATES SYRUP AND Assessing SOME OF THE FACTORS AFFECTING THE POROSITY AND THICKNESS OF THE MEMBRANES CELLULOS

Sinan M. J. AL- Maleki

Elham I. AL- Shamary

Abstract:

The experiment in a biotechnology laboratory of the Department of Food Science / College of Agriculture / University of Baghdad, in 2012 to study some of the important properties of cellulose produced from bacteria *A. xylinum. SA1*, a thickness of membrane cellulose, and ability to water holding, and study its porosity, and tensile strength, and measuring the degree of crystallization by examining (X-ray) and compared with cellulose plant and analyzing infrared spectroscopy (IR) to confirm his identity. Where the results showed that the thickness of the membrane was 3.3 mm, and its ability to water holding was high comparison with plant origin, and porosity of 49%, and the power intensity of 1.2 Mikabascal, as well as became clear that cellulose bacterial is more elaborate than cellulose plant and a factor of crystallization rate of more than 60 %,

and when analyzing the infrared spectrum (IR) of bacterial cellulose to confirm his identity was found matching the shape of the infrared spectrum of Cellulose taken from the Encyclopedia of infrared spectra of chemical compounds. Also studied The effect of different agricultural media on the amount of Cellulose and the dry weight of the cells and the porosity and thickness of the Cellulose membranes were studied. In addition, the vaccine volume, incubation periods and alkali concentration used in the purification of the Cellulose membrane, and drying method on a porous membrane of Cellulose were highlighted. and influenced by different factors.

المقدمة:

يعد السيليلوز البكتيري من السكريات المتعددة الخارجية غير الذائبة ، بدأ الاهتمام به في المدة مابين عامي 1992- 1998 م في اليابان (Dubey وآخرون., 2002 Krystynowicz; وآخرون ., 2002). يشابه السيليلوز البكتيري كيميائيا السيليلوز النباتي إذ يتكون أيضا من سلاسل من الكلوكان (4 - 1) - β لكنه يختلف عنه في اغلب الخواص الفيزيوكيميائية والميكانيكية والريولوجية. (Chawla وآخرون., 2009). ويوجد نوعان من السيليلوز I و I α و I β اعتمادا على الترتيب بين سلاسل البوليمر، يكثر النوع الأول في السيليلوز المنتج من الطحالب والبكتريا مقارنة مع السيليلوز النباتي، ومحتوى السيليلوز البكتيري المنتج بالمزارع الساكنة من النوع I α أعلى مقارنة بالسيليلوز المنتج في المزارع المتحركة (Mark وآخرون., 2007).

استخدم الفلبينيون السيليلوز البكتيري لأول مرة في صناعة حلوى Nata de Coco التي لاقت استحسانا كبيرا لقوامها الناعم ومحتواها العالي من الألياف ، وانتشرت بسرعة إلى اليابان والدول المجاورة لما لها من خصائص جيدة حيث تعتبر من الأغذية الوظيفية ذات الطاقة الواطئة ، و لها دور في تنظيم عمل الجهاز الهضمي لما تحويه من كمية كبيرة من الألياف التي لا يستطيع الإنسان هضمها لعدم امتلاكه الأنزيمات المحللة لها ومن ثم فإنها لا تسهم بتزويد الجسم بالطاقة (Sheu وآخرون., 2000 Budhiono; Cai; 2000 وآخرون ., 1999). كما يستخدم السيليلوز البكتيري في إنتاج ما يسمى Kombokuch elixir أو Manchurian tea أو Tea fungus أو Magical mushroom الناتج من تنمية بكتريا *Acetobacter* وبعض أنواع الخميرة *Candida sp* , *Pichiasp*, *Debaromyces* على وسط يحوي على مستخلص الشاي والسكر، فالسيليلوز الناتج ومستخلص التخمر الحاوي على حامض الخليك والكتونات وحامض الكلوكونك يستفاد منها في تحسين الصحة (Int.1).

و يستخدم السيليلوز البكتيري في إنتاج بدائل للحم، إذ صنع في هذا المجال منتج يعرف بـ Monascus – nata complex الحاوي على Monocolink الخافض للكولسترول ، وعلى ألياف الحماية البكتيرية، ويعد هذا المنتج من بدائل اللحم الجديدة للأشخاص النباتيين ، إذ يمتلك لونا" ونسجه مشابهة لتلك التي تميز الكبد Liver والتونة Tuna (Izadi وآخرون., 2012 Marlett; وآخرون., 2002).

يستخدم السيليلوز البكتيري مثنى ومثبت بمدى واسع من الأرقام الهيدروجينية ودرجات الحرارة وظروف الإذابة والتجميد للمواد الغذائية المختلفة (Son وآخرون., 2001 Cheng; وآخرون., 2002 Ng and Shyu; 2004). حيث تم استخدام السيليلوز البكتيري مادة مثخنة ومثبتة في صناعة المثلجات القشطية والصلصة والحلوى والكريم الحامضي ومنتجات الألبان المجمدة وفي الوجبات السريعة ذات الطاقة الواطئة (Int.2 ; Int.3 ; Chawla وآخرون., 2009).

ومن الاستخدامات المهمة للسيليلوز البكتيري في يومنا هذا استخدامه في مجال التغليف حيث استخدم في تغليف العديد من المنتجات الغذائية كالفواكه ، ولحوم الأسماك ، والصوصج وذلك لمنع تدهور الغذاء ، وإطالة العمر الافتراضي له وضمان صحة وسلامة المستهلك (Denise وآخرون., 2011). ففي السنوات الأخيرة بدأ الاهتمام بمواد التغليف المضادة للميكروبات وهو من اكبر السوق المتنامية في يومنا هذا (Comstock وآخرون ., 2004)، وقد لاقى اهتماما كبيرا في الصناعات الغذائية بسبب الزيادة في الطلب على السلع الاستهلاكية المعالجة

بالحد الأدنى (Minimally processing food) ، والخالية من المواد الحافظة . تشير الاتجاهات الحالية إلى أن تغليف المواد الغذائية عنوان الحلول الفعالة والتي سيتم تطبيقها خلال المراحل المقبلة ، 2009, Wilfred ; 2011, Elegir Sasithorn وآخرون., 2008) . واستخدم أيضا في تقييد أنزيم الاميليز للمحافظة عليه من درجات الحرارة العالية والمنخفضة ومن درجة الحموضة المنخفضة (2008, Sheng and Ying) .

إما في المجالات الأخرى غير الغذائية فقد حقق السيليلوز البكتيري نجاحات كبيرة ولاسيما في المجال الطبي لامتلاكه قوة شد عالية ومسامية مشابهة للأنسجة الحية والقدرة العالية على حمل الماء حيث استخدم السيليلوز الرطب ضمادات لعلاج حروق الجلد الشديدة والقرحة والجروح الشديدة (Thawatchai وآخرون., 2007; Aase, 2007) . علاوة على ذلك ، يبدو أن السيليلوز بطريقة أو بأخرى يعزز من نمو خلايا الجلد البشري ، واستخدم ضماداته في علاج الجروح كونها توفر الرطوبة المناسبة التي تقلل ألم الجرح وتعجل الشفاء لارتفاع مسامية السيليلوز مما يسهل من نقل العلاج عبر الأغشية السيليلوزية ومنع دخول الملوثات (Retegi وآخرون., 2010) .

واستخدم في إصلاح الأنسجة المتضررة داخل الجلد ، دون التأثير على خلايا الجسم والتسبب بالالتهابات واستخدم مادة مألوفة بسبب رطوبته العالية بين الفقرات عن طريق زراعة البكتريا المنتجة للسيليلوز في ذلك المكان ونسبة نجاح 95 % ، وفي عمليات التجميل وفي صناعة الأوعية الدموية الدقيقة، وفي إصلاح العظام.(Jeffrey., 2010.; Czaja وآخرون., 2007.; Pericles وآخرون., 2009)

ويستخدم السيليلوز البكتيري على المستوى الصناعي في تحضير أغشية ذات استخدامات مختلفة اعتمادا على حجم فتحاتها ، إذ يمكن استخدامها كأغشية في تقنية الترشيح الفائق وأغشية نفاذة للغازات (Luz وآخرون.; kuan 2006., وآخرون., 2009) . واستخدم في صناعة مكبرات الصوت ذات الجودة العالية ، واستخدم في صناعة أغلفة للأجهزة الحساسة لان قوة الشد له أكبر من اغلب المواد المغلفة الأخرى (Holmes; 2006, Keshk and Sameshima, 2004) . وبناءا على ما تقدم هدف البحث الى دراسة بعض الخواص المهمة للسيليلوز المنتج باستخدام بكتريا *A.xylinumSA1* وعصير التمر كوسط غذائي للإنتاج .

المواد وطرائق العمل

دراسة بعض الخواص المهمة للسيليلوز المنتج من بكتريا *A.xylinumSA1*

تقدير سمك غشاء السيليلوز

قدر سمك الغشاء السيليلوزي المنتج تحت الظروف المثلى حسب الطريقة التي أوردها Anker وآخرون (2000) ، باستعمال المايكروميتر (Micrometer) بأخذ معدل السمك لست مواقع اختيرت بصورة عشوائية من المحيط إلى مركز الغشاء السيليلوزي.

قابلية السيليلوز البكتيري على الاحتفاظ بالماء

أجريت التجربة كما أوضحتها الشمري (2007)، بإضافة 10 مليلتر من الماء إلى كل من السيليلوز البكتيري الجاف والسيليلوز النباتي (ورقة ترشيح) بنفس الوزن والقطر والسمك تقريبا. ثم جففا في فرن حراري هوائي oven بدرجة حرارة 60 م° وقدر وزنها على مدد زمنية متعاقبة تراوحت من 10 إلى 180 دقيقة وقدرت قابلية السيليلوز على الاحتفاظ بالماء بالفرق بين الماء المحمول على السيليلوز وبين الفقد الحاصل في الماء كنسبة مئوية وفق المعادلة الآتية:

$$\text{المحتوى المائي (\%)} = 100 - \left(\frac{\text{الوزن بعد الترطيب (غم)} - \text{الوزن النهائي (غم)}}{\text{الوزن بعد الترطيب (غم)}} \times 100 \right)$$

قياس مسامية (Porosity) الغشاء السيليلوزي

قدرت مسامية الغشاء السيليلوزي المنتج حسب الطريقة التي اعتمدها Weihua وآخرون., (2010) وبالاكتفاء على المعادلة التي أوردها kitaoka وآخرون., (1997) والتي تنص على استخراج الوزن بالماء بنقع السيليلوز الجاف في الماء المقطر لأكثر من 12 ساعة بدرجة حرارة الغرفة وقدر الوزن .

$$\text{المسامية \%} = \frac{\text{الوزن الرطب} - \text{الوزن الجاف}}{\text{الوزن الرطب}} \times 100$$

قياس قوة الشد

فحص السيليلوز البكتيري الناتج من بكتريا *A. xylinum* AS1 باستخدام جهاز لقياس قوة الشد في قسم الكيمياء / وزارة العلوم والتكنولوجيا.

فحص السيليلوز البكتيري باستخدام جهاز IR

فحص السيليلوز البكتيري الناتج من بكتريا *A. xylinum* AS1 باستخدام جهاز FT-IR في قسم الكيمياء / وزارة العلوم والتكنولوجيا .

دراسة تأثير بعض العوامل في بعض خواص السيليلوز

تأثير استخدام أوساط زرع مختلفة في مسامية وسمك الأغشية السيليلوزية .

درس تأثير استخدام أوساط زرع مختلفة ذات مصادر كربونية مختلفة في مسامية وسمك الأغشية المنتجة من *A. xylinum* AS1 شملت هذه الأوساط وسط عصير التمر المحضر من التمر الزهدي وبتريكز 10 برقس ووسط HS القياسي ووسط HS المحور بأستبدال السكر محل الكوكوز مصدرا للكربون ووسط HS المحور بأستبدال الكوكوز بعصير التمر والحاوي على 1 لتر عصير التمر (10 برقس) 5 غم ببتون ، 5 غم مستخلص الخميرة ، 6.75 غم $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ ، 1.15 غم حامض الستريك . عدل الرقم الهيدروجيني لجميع الأوساط إلى 6 ووزعت في دوارق سعة 300 مليلتر وبواقع 100 مليلتر لكل دورق وعقمت بالمؤودة بدرجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند/ انج² . لقحت جميع الأوساط المحضرة أعلاه بـ 5 مليلتر من معلق العزلة المنتخبة وحضنت الدوارق بدرجة حرارة 30 م° مدة 7 أيام . استخلص السيليلوز المنتج وقدرت كميته حسب الطريقة التي أوردها Neelobon وآخرون., (2007) وقدر سمك الأغشية الناتجة ومساميتها حسبما مذكور في الفقرتين حسبما مذكور أعلاه .

تأثير حجم اللقاح في مسامية الأغشية السيليلوزية وسمكها

قدرت مسامية الأغشية وسمكها باستخدام حجوم لقاح مختلفة تراوحت ما بين 2 – 12 مليلتر وبفارق 2 مليلتر من لقاح لآخر ، يحوي المل الواحد على 10^6 خلية/ مل باستخدام عصير التمر (10 برقس) وسطا للإنتاج.

تأثير مدة الحضان في مسامية الأغشية السيليلوزية وسمكها

درست تأثير مدد حضان مختلفة استمرت 20 يوم في مسامية وسمك الأغشية السيليلوزية المنتجة من عصير التمر باستخدام بكتريا *A. xylinum* AS1 قدرت المسامية وسمك الأغشية السيليلوزية حسب الطرق المذكورة أعلاه.

تأثير تركيز القاعدة المستخدمة في التنقية على مسامية الأغشية السيليلوزية :

أجريت التنقية للسيليلوز الناتج من العزلة *A. xylinum* AS1 باستخدام عصير التمر (10 برقس) حسب الطريقة التي أوردها Neelobon وآخرون (2007). وباستخدام محاليل من القاعدة Na OH بتركيزات مختلفة شملت (0.1، 0.5، 1، N). قدرت بعدها سمك الأغشية السيليلوزية الناتجة ومساميتها حسبما مذكور في اعلاه.

تأثير طريقة التجفيف في مسامية الأغشية السيليلوزية :

استخدمت طريقة التجفيف في الفرن الهوائي Air – drying والتجفيف باستخدام طريقة التجفيف Freeze-drying وحسبما ذكره Weihua وآخرون (2010) للأغشية السيليلوزية المنتجة من العزلة *A. xylinum* AS1، و قدرت مسامية الأغشية الناتجة من طريقتي التجفيف وحسبما ورد في اعلاه.

النتائج والمناقشة :

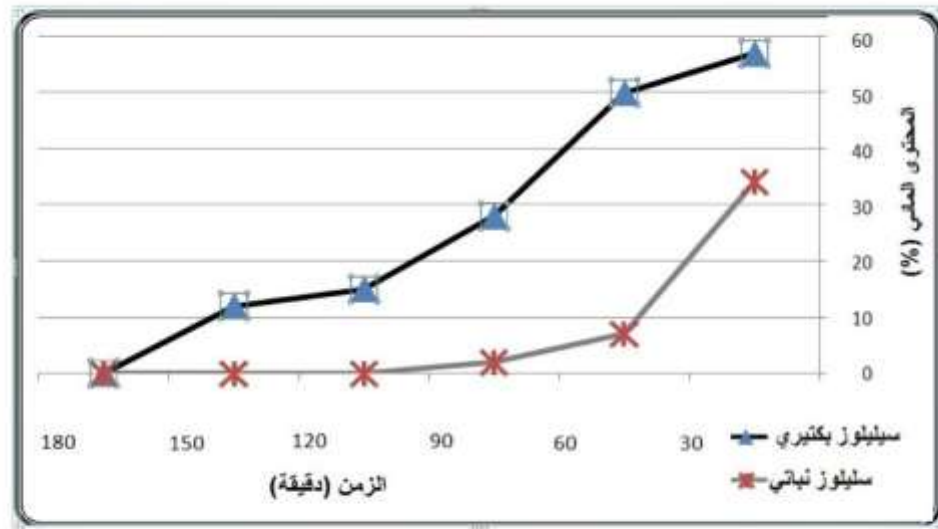
دراسة بعض خواص السيليلوز المنتج من العزلة المحلية للبكتريا *A. xylinum*

تقدير سمك غشاء السيليلوز

إن لدراسة سمك الأغشية السيليلوزية أهمية كبيرة لما له من علاقة وثيقة ببعض الخصائص الميكانيكية للغشاء كقوة الشد ونفاذية بخار الماء وغيرها من الخواص الأخرى. قدر سمك الغشاء السيليلوزي المنتج تحت الظروف المثلى من العزلة المحلية المحلية *A. xylinum* AS1 باستخدام عصير التمر وسطا طبيعيا لإنتاج السيليلوز، إذ بلغ سمك الغشاء المنتج 3.3 ملليمتر. وقد أشارت الشمري، (2007) إلى أن سمك غشاء السيليلوز المنتج من بكتريا *A. xylinum* FEA 48 قد بلغ 2.35 و 2.15 ملليمتر باستخدام الفركتوز والكلوكوز كمصدرين للكربون في وسط الإنتاج على التوالي، خلال مدة حضانة استغرقت 7 أيام. فيما أشار Ciechanska (2002)، إلى أن سمك غشاء السيليلوز المنتج من بكتريا *A. xylinum* قد بلغ 2.45 ملليمتر في وسط الإنتاج الصناعي الذي يحوي على الكلوكوز مصدرا للكربون خلال مدة حضانة 7 أيام.

قابلية السيليلوز البكتيري على الاحتفاظ بالماء :

إن قابلية السيليلوز البكتيري العالية على الاحتفاظ بالماء أكسبته أهمية خاصة واهتماما كبيرا في السنوات الأخيرة وخصوصا فيما يتعلق باستعمالاته الطبية والصيدلانية (Cheng وآخرون، 2002). يوضح من الشكل (1) قابلية السيليلوز البكتيري المنتج من العزلة *A. xylinum* AS1 على الاحتفاظ بـ 10 مل من الماء مقارنة مع السيليلوز النباتي المتمثل بورق الترشيح المشابه للغشاء السيليلوزي تقريبا من حيث السمك والقطر. إذ يلاحظ احتفاظ السيليلوز البكتيري بحوالي 57% من محتواه المائي في حين احتفظت ورقة الترشيح بحوالي 34% من محتواه المائي بعد 30 دقيقة من التجفيف في 60 م°، لكنها فقدته بالكامل بعد مرور 90 دقيقة تقريبا. في حين فقد السيليلوز البكتيري كامل محتواه المائي تقريبا بعد مرور 163 دقيقة على التجفيف، وهذا يعني أن للسيليلوز البكتيري قدرة على الاحتفاظ بالماء لزمان يبلغ ضعف الزمن الذي يحتفظ به السيليلوز النباتي تحت ظروف التجربة. ويرجح أن يرجع هذا إلى كثرة التفرعات والارتباطات الجانبية بواسطة الأواصر الهيدروجينية في السيليلوز البكتيري والتي تمنحه التميز في قابلية الاحتفاظ بالماء. إن هذه النتيجة اتفقت مع الشمري (2007)، وقد أشار Retegi وآخرون (2010)، إلى أن السيليلوز البكتيري يحتفظ بما يتراوح ما بين 98-99% من وزنه بالماء.



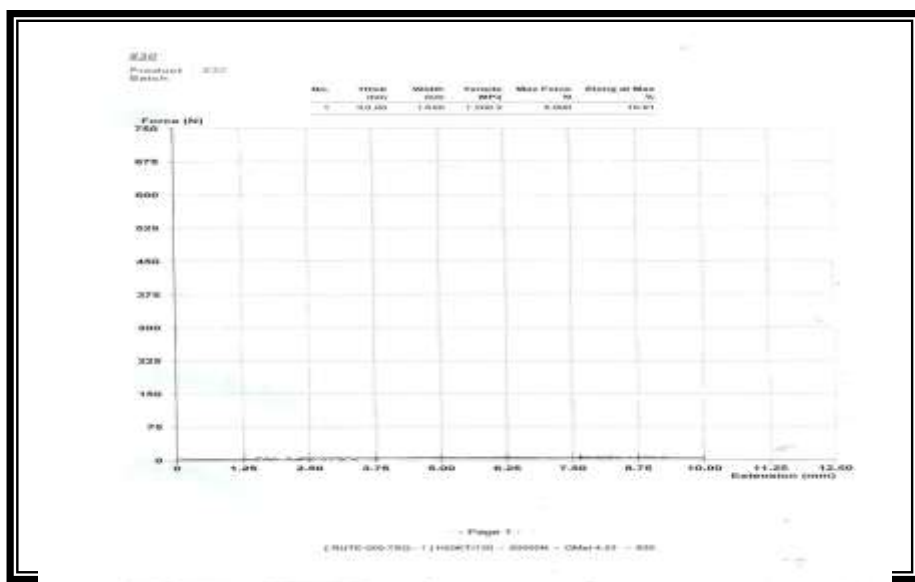
الشكل (1): النسبة المئوية لكمية الماء المحمولة على السيليلوز البكتيري المنتج من البكتريا *A. xylinum* SA₁ والسيليلوز النباتي خلال مدة زمنية معينة وفي درجة حرارة 60 م°.

قياس مسامية الغشاء السيليلوزي :

قدرت مسامية الغشاء السيليلوزي المنتج من بكتريا *A. xylinum* SA₁ تحت الظروف المثلى للإنتاج باستخدام عصير التمر وسطاً للإنتاج ، إذ وجد أن مسامية الغشاء المنتج قد بلغت 49% ، في حين أشار Weihua وآخرون (2010) إلى أن مسامية الغشاء السيليلوزي المنتج من بكتريا *A. xylinum* باستخدام الطريقة الساكنة قد بلغت 77% و 67% و 65% عند استخدام السكر و الكلو كوز والفركتوز مصادر للكربون في وسط الإنتاج وعلى التوالي ، مما يدل على تأثير مسامية الأغشية المنتجة بنوع مصدر الكربون وعلى الظروف البيئية وهذا ما أكد الباحثون أنفسهم . قد يعود سبب انخفاض مسامية الغشاء المستحصل عليه من استخدام عصير التمر كوسط للإنتاج إلى كون الأخير مصدراً جيداً للكربون لاحتوائه على الكلو كوز والفركتوز بنسب متساوية تقريباً وعلى قليل من السكر مما يفسح المجال أمام البكتريا لإنتاج كميات كبيرة من السيليلوز الذي ينتج بشكل طبقات متوازية متداخلة الألياف مما يؤدي إلى تقليل مساميتها وهذا ما أكدته Weihua وآخرون (2010) .

قياس قوة الشد :

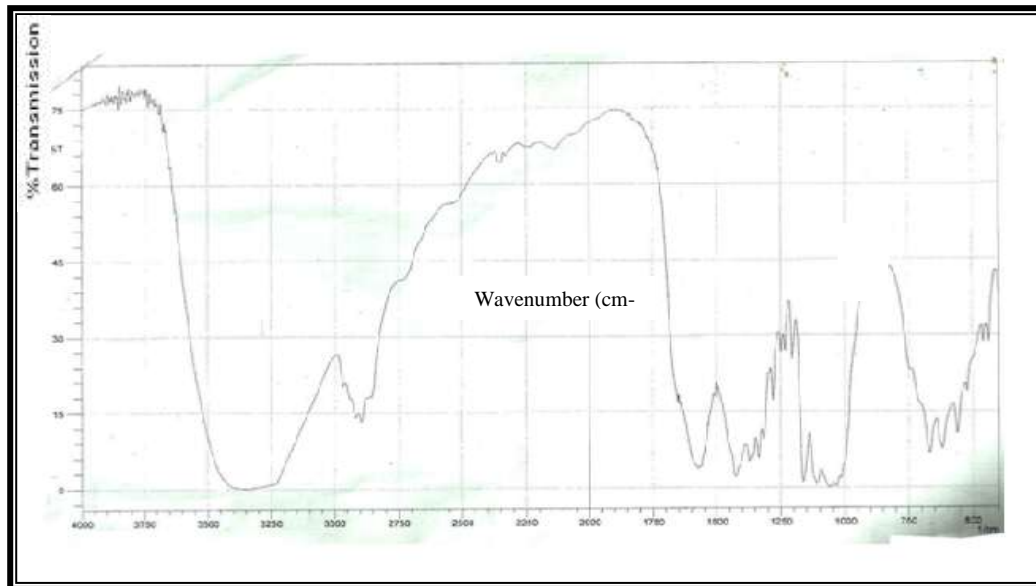
تعد قوة الشد خاصية ميكانيكية هامة ، وهي تعبر عن أقصى جهد سحب (pulling stress) يمكن للغشاء أن يتحمله قبل انقطاعه في أثناء فحص الشد ، وتعد مقياساً كمياً لقوة الغشاء على التمدد وقابليته (Gennadios وآخرون، 1993) . بلغت قوة الشد للغشاء السيليلوزي المنتج من العزلة المحلية *A. xylinum* SA₁ باستخدام عصير التمر وبمراعاة الظروف المثلى للإنتاج 1.2 ميكاباسكال كما مبين الشكل (2). تعكس قوة الشد مدى التماسك التركيبي للغشاء السيليلوزي الناتج من الترابط والتشابك للطبقات المتوازية للسيليلوز بعضها فوق بعض بواسطة الأواصر الهيدروجينية الجانبية المتعددة القوية مما يؤدي إلى زيادة قوة الشد للأغشية السيليلوزية . وقد أشارا Shuai & Jin (2011) إلى ارتفاع قوة الشد إلى 1.54 ميكاباسكال عند إضافة الجينات الصوديوم إلى وسط الإنتاج القياسي ، بعد أن كانت 0.54 ميكاباسكال بدون إضافة ، مما يؤكد تأثير قوة الشد للسيليلوز البكتيري بالظروف البيئية لوسط الإنتاج.



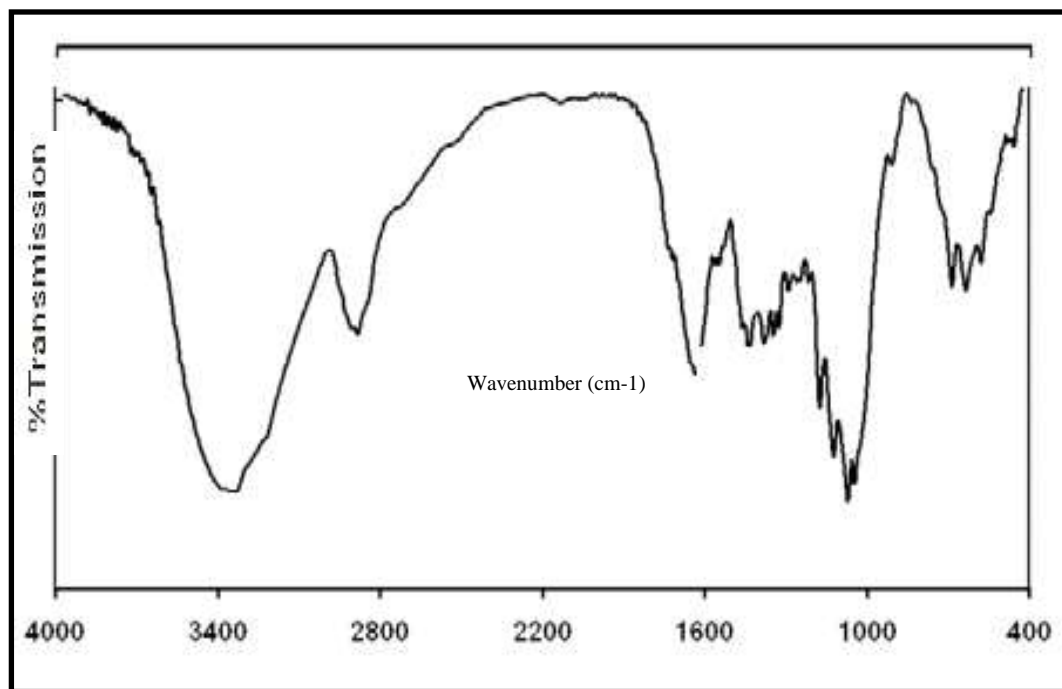
الشكل (2) : فحص قوة الشد للسيليلوز البكتيري المنتج من بكتريا *A. xylinum* SA1 باستخدام وسط الإنتاج الطبيعي (عصير التمر).

تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء (IR)

يبين الشكلين (3) و (4) طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) للسيليلوز المنتج من الوسط الطبيعي (عصير التمر) والسيليلوز القياسي (النباتي) على التوالي. ويلاحظ من هذه الإشكال وجود تشابه واضح بينهما وهذه النتيجة تتفق مع (Chartes, 2010) في موسوعة أطيف الأشعة تحت الحمراء للمركبات الكيميائية. إذ أشارت جميع الإشكال وبشكل واضح إلى الحزمة الخاصة بمجموعة OH الموجودة في السيليلوز والتي تظهر بشكل قمة عريضة عند التردد 3400-3100 سم⁻¹ ويمكن تفسير ظهورها بهذا الشكل هو وجود الأواصر الهيدروجينية بين مجاميع OH في السيليلوز، والتي كثيرا ما تظهر في أطيف الأشعة تحت الحمراء للكربوهيدرات عامة. وتظهر بشكل واضح في جميع الأطيف الحزمة الخاصة بـ (C-H) بشكل قمة حادة عند التردد 2980 سم⁻¹، أما التي تظهر ما بين 1500-1000 سم⁻¹ فهي تعطي دليلا مقبولا على أنها عائدة إلى الأصرة C-H bending والتي تظهر عند التردد 1467 سم⁻¹، والأصرة C-OH والتي تظهر بشكل قمة قوية وعريضة عند التردد 1070 سم⁻¹ والأصرة C-O والتي تظهر عند التردد 1040 سم⁻¹، وهذه هي أبرز المجاميع الفعالة في السيليلوز أما المنطقة الواقعة من 1000 سم⁻¹ فما دون فهي ليست بذات أهمية لأنها تعود إلى تأرجح وانحناء الأصرة C-C والتي تظهر عند التردد 1000-800 سم⁻¹ وعند التردد 500 سم⁻¹ والتي لا يخلو منها مركب عضوي وهذا ما كده Silversteino وآخرون، (1996).



الشكل (3) فحص IR للنموذج من السيليلوز المنتج من بكتريا *A. xylinum* SA1 باستخدام الوسط الطبيعي (عصير التمر)

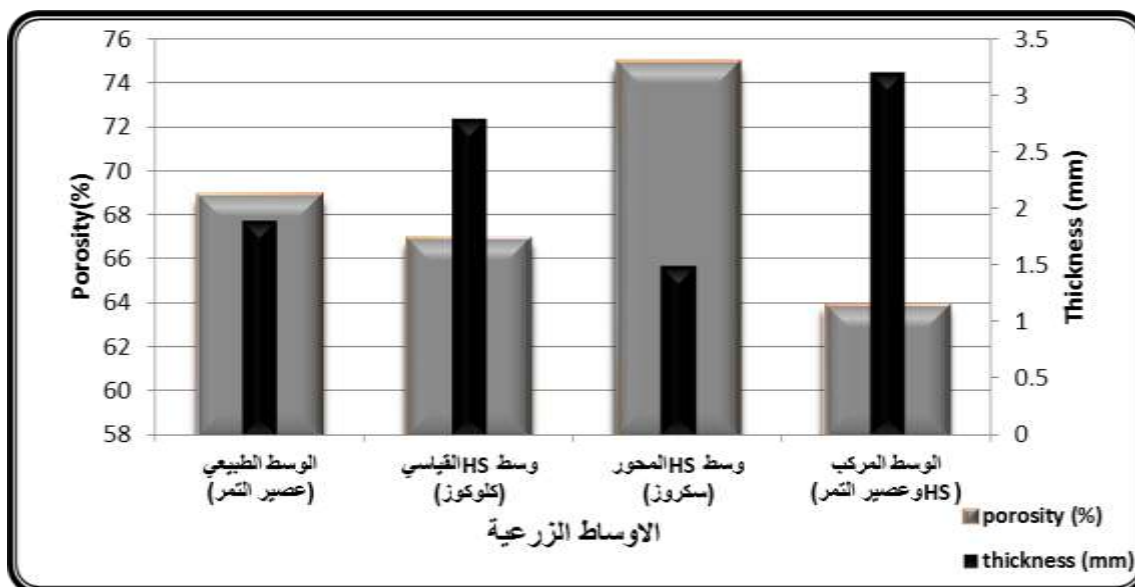


الشكل (4): فحص IR لنموذج من السيليلوز القياسي

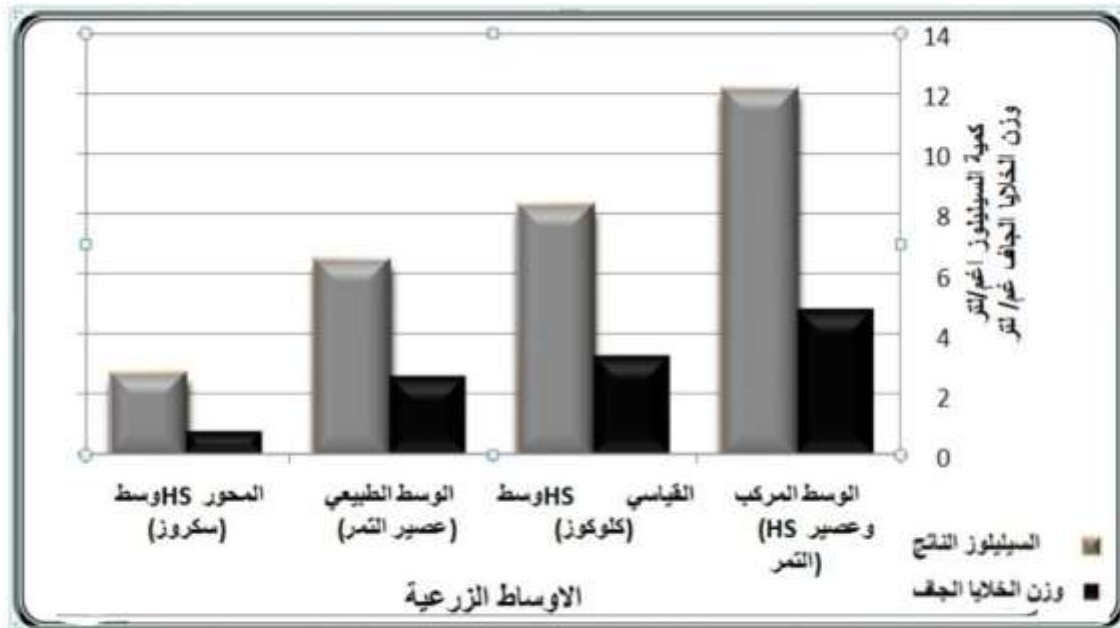
دراسة تأثير بعض العوامل على بعض خواص السيليلوز المنتج من بكتريا *A. xylinum* SA₁ تأثير استخدام أوساط زرعيه مختلفة في مسامية الأغشية السيليلوزية وسمكها كما موضح في الشكل (5) والشكل (6) فان أعلى مسامية تم الحصول عليها هي 75% باستخدام وسط HS-medium المحور باستبدال الكلوكوز بالسكروز كمصدر للكربون ، في حين بلغ سمك الغشاء 0.8 ملليمتر وبكمية

سيليلوز 2.72 غم/لتر وبوزن خلايا جاف بلغ 0.8 غم/لتر وهو اقل سمك تم الحصول عليه مقارنة بالأوساط الأخرى ، يليه الوسط الطبيعي المتمثل بعصير التمر ومن ثم وسط HS- medium ، وأخيرا وسط HS- medium المحور بإضافة عصير التمر بتركيز 10% بدلا من سكر الكلوكوز إذ بلغت المسامية للأغشية الناتجة من هذه الأوساط (69 ، 67 ، 64) % وبسمك (1.8 ، 2.2 ، 3.2) ملليمتر وبكمية سيليلوز بلغت (6.5، 8.3، 12.2)غم/لتر وبوزن خلايا جاف (2.6، 3.3، 4.8) غم/لتر على التوالي .

وقد أشار Nakai ، وآخرون(1999) إلى أن السبب في انخفاض كمية السيليلوز المنتجة من السكروز التي تؤثر في مسامية الأغشية الناتجة وسمكها هو أن بكتريا *A. xylinum*SA₁ لا تمتلك انزيم Sucrose synthase وبذلك فهي تحتاج إلى أربع خطوات انزيمية لتحويل السكروز إلى UDP-glucose ، وأشار إلى أن استخدام السكروز مصدرا وحيدا للكربون يحد من نمو البكتريا مقارنة بالكلوكوز مما يقلل من كمية الألياف الدقيقة المنتجة وبالتالي الحصول على أغشية ذات مسامية عالية وسمك منخفض ، ومن النتائج المستحصل عليها يمكن الاستنتاج بأنه كلما زادت كمية السيليلوز المنتجة ينتج عنه زيادة في سمك الأغشية وانخفاض في المسامية وذلك لأنه زيادة كمية السيليلوز تعني زيادة في عدد طبقات السيليلوز المتوازية والمتكونة من ألياف دقيقة متشابكة مع بعضها ترتبط بقوة بالأواصر الهيدروجينية وبالتالي يؤدي إلى زيادة سمك الأغشية وقلة مساميتها. وتختلف كمية السيليلوز المنتجة باختلاف مصادر الكربون وبالتالي فإن مصدر الكربون يؤثر في الأغشية الناتجة ووزن الخلايا الجاف لها وهذا ما أكدته Weihua وآخرون.(2010) في تأثير مصدر الكربون على مسامية الأغشية السيليلوزية المنتجة وسمكها من بكتريا *Acetobacter xylinum* .



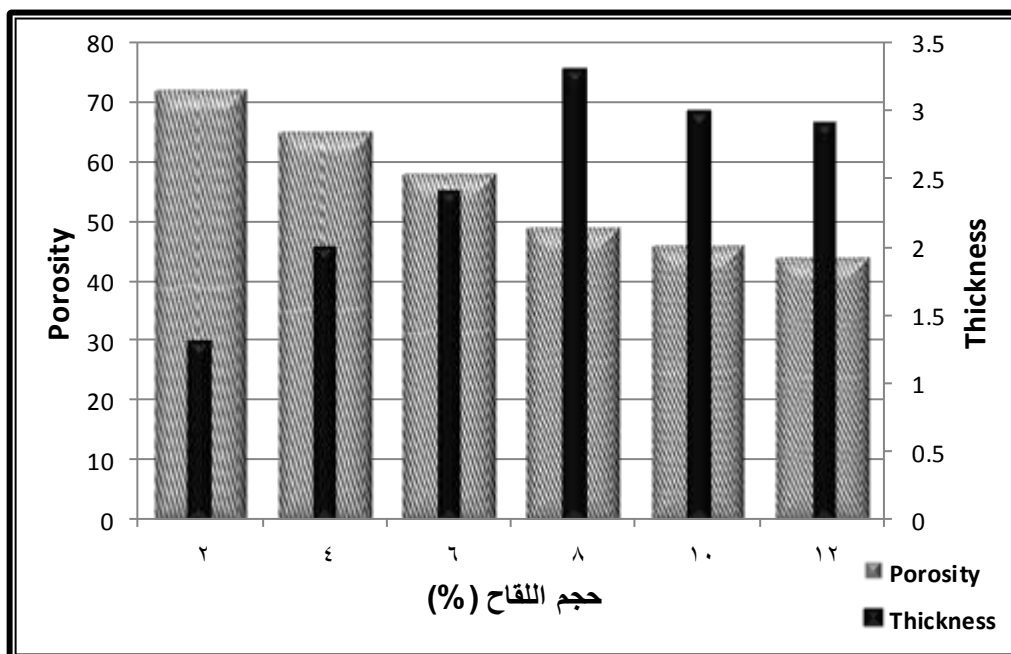
الشكل (5): تأثير الأوساط الزراعية المختلفة (مصادر الكربون) على مسامية الأغشية السيليلوزية المنتجة وسمكها من بكتريا *A. xylinum* SA₁ بحجم لقاح 8% وبمدة حضن 7 أيام



الشكل (6): تأثير الأوساط الزراعية المختلفة (مصادر الكربون) على كمية السيليلوز المنتج ووزن الخلايا الجاف من بكتريا *A. xylinum SA1* بحجم لقاح 8% وبمدة حضن 7 أيام.

تأثير حجم اللقاح في مسامية الأغشية السيليلوزية وسمكها:

يتبين من النتائج في الشكل (7) أن سمك ومسامية الأغشية السيليلوزية المنتجة من بكتريا *Acetobacter xylinum SA1* قد تأثرت بحجم اللقاح فقد زاد سمك الغشاء السيليلوزي بزيادة حجم اللقاح حتى بلغ أقصاه 3.3 ملليمتر عند حجم اللقاح الأمثل 8% ، وقد لوحظ انخفاض في سمك الغشاء ولو بنسبة قليلة بزيادة حجم اللقاح حيث بلغ (3-2.9) ملليمتر عند حجم اللقاح 10% و 12% على التوالي ، وقد يعزى ذلك إلى حصول تنافس بين خلايا البكتريا على المغذيات الضرورية للنمو والتكاثر وإنتاج السيليلوز في وسط الإنتاج بزيادة حجم اللقاح وبالتالي انخفاض في إنتاج السيليلوز. أما مسامية الغشاء السيليلوزي المنتج فقد كانت على العكس تماماً من ما هو عليه عند قياس سمك الغشاء السيليلوزي فقد انخفضت المسامية بزيادة حجم اللقاح حتى بلغت 49% عند حجم اللقاح 8% وعند زيادة حجم اللقاح بدأت مسامية الغشاء السيليلوزي تقل لكن بنسبة قليلة حيث بلغ (44-46)% عند حجم اللقاح 10% و 12% وعلى التوالي. ولقد أشار Backdahl وآخرون (2006) إلى أن زيادة حجم اللقاح يؤدي إلى زيادة في الكتلة الحيوية وبالتالي زيادة في إفراز الألياف المتناهية في الصغر والتي أدت إلى إنتاج غشاء سيليلوزي أكثر إحكاماً وسمكاً وتقلصاً للمسامية وقد اتفقت النتائج مع ما توصل إليه Weihua وآخرون (2010) من الحصول على أعلى سمك وأقل مسامية للغشاء السيليلوزي المنتج من بكتريا *Acetobacter xylinum* باستخدام حجم اللقاح 8% .

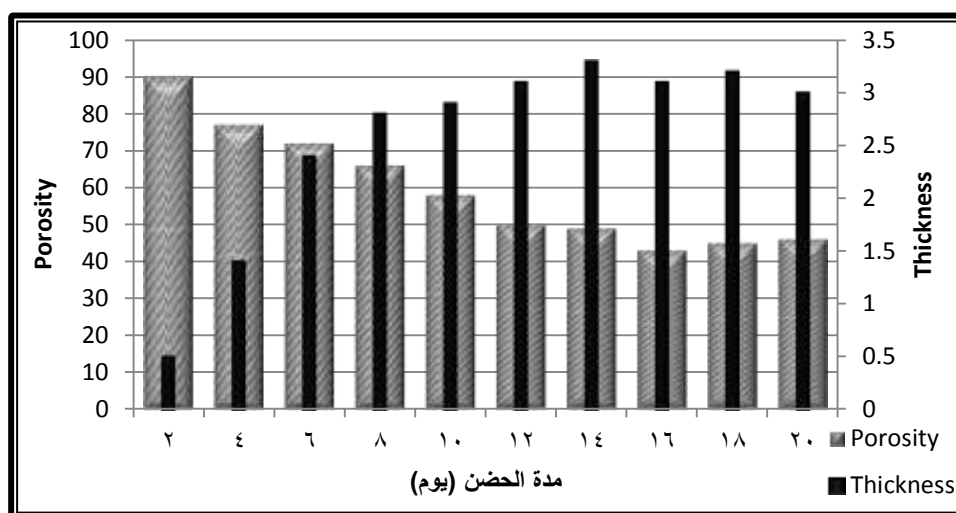


الشكل (7): تأثير حجم اللقاح على سمك الأغشية السيليلوزية المنتجة ومساميتها من بكتريا *A. xylinum* SA₁ باستعمال عصير التمر وسطاً للإنتاج وبمدة حضن 7 أيام.

تأثير مدة الحضن في سمك الأغشية السيليلوزية ومساميتها :

يبين الشكل (8) زيادة سمك الغشاء السيليلوزي الناتج بزيادة مدة الحضن وبلغ أقصاه 3.3 ملليمتر بعد 14 يوم من الحضن رافق ذلك انخفاضاً في المسامية والتي بلغ أقلها 49% بعد 14 يوم من الحضن ، وقد يعود السبب في ذلك إلى الزيادة الحاصلة في الكتلة الحيوية في وسط الإنتاج وبالتالي زيادة في إفراز الألياف المتناهية الصغر والتي أدت إلى زيادة في سمك الغشاء السيليلوزي المنتج وانخفاض في مساميته .

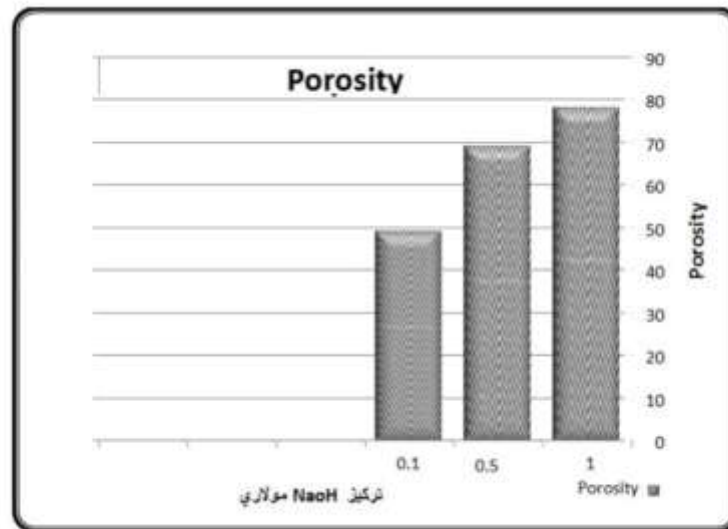
ذكر Weihua وآخرون (2010) أن سمك الغشاء السيليلوزي الناتج من بكتريا *Acetobacter xylinum* باستخدام وسط الإنتاج المعروف HS- medium بلغ 0.3 ملليمتر في اليوم الثالث من مدة الحضن .



الشكل (8): تأثير حجم اللقاح على سمك الأغشية السيليلوزية المنتجة ومساميتها من بكتريا *A. xylinum* SA₁ باستخدام عصير التمر وسطاً طبيعياً للإنتاج وبمدة حضن 7 أيام.

تأثير تركيز القاعدة في مسامية الأغشية السيليلوزية

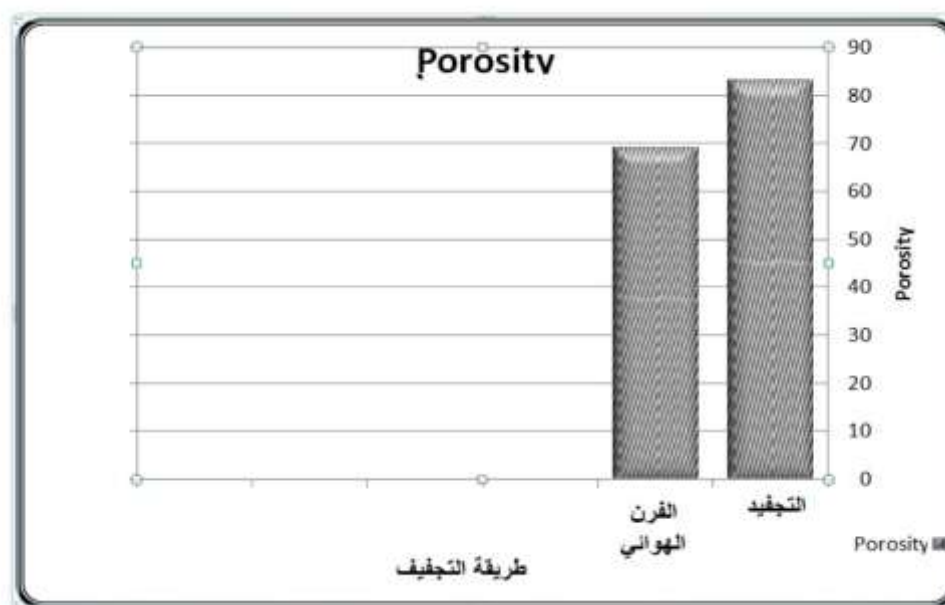
يوضح الشكل (9) تأثير تراكيز مختلفة للقاعدة المستخدمة في تنقية السيليلوز بعد استخلاصه من وسط الإنتاج على مساميته ، إذ يلاحظ من الشكل انخفاض المسامية بزيادة تركيز القاعدة ، حيث بلغت المسامية (49 ، 69 ، 78) باستخدام التراكيز (1 ، 0.5 ، 0.1) مولر على التوالي وقد أشار George وآخرون (2005) و Brigid وآخرون (2009) ، و Weihua وآخرون (2010) إلى أنه بزيادة تركيز القاعدة يزداد انتفاخ الألياف السيليلوزية مما يؤدي إلى زيادة في قطرها وانخفاض في حجم الفتحات وبالتالي انخفاض في المسامية .



الشكل (9): تأثير تركيز القاعدة (NaOH) على مسامية الأغشية السيليلوزية المنتجة من بكتريا *A. xylinum* SA1 باستخدام عصير التمر وسطا طبيعيا للإنتاج وبمدة حضن 7 أيام.

تأثير طريقة التجفيف في مسامية الأغشية السيليلوزية

يوضح الشكل (10) تأثير طريقة التجفيف في مسامية الأغشية السيليلوزية المستحصل عليها من بكتريا *A. xylinum* SA1، إذ يلاحظ ارتفاع المسامية في الأغشية المجففة بالتجفيد والتي وصلت إلى حوالي 83% مقارنة مع تلك المستحصل عليها في الأغشية المجففة بالفرن الهوائي والبالغة 69% تقريبا . وقد عزا Marabi (2004) ، and Saguy و Svensson وآخرون (2005) السبب إلى أنه عملية التجفيف بالتجفيد تمنع من تقلص الفتحات في أثناء عملية التجفيف ، في حين أشار Karathanos وآخرون (1996) إلى أن التجفيف بالفرن الهوائي يؤدي إلى الانهيار والفقدان السريع للمحتوى المائي ، في حين تحدث هذه الحالة بصورة تدريجية في التجفيد .



الشكل (10): تأثير طريقة التجفيف في مسامية الأغشية السيليلوزية المنتجة من بكتريا *Acetobacterxylinum* SA1 باستخدام عصير التمر وسطا طبيعيا للإنتاج وبمدة حضن 7 أيام.

المصادر :

الشمري ، الهام إسماعيل ، (2007) . إنتاج السيليلوز البكتيري من العزلة المحلية *Acetobacter xylinum* FEA48 ودراسة بعض خواصه واستخداماته في الصناعات الغذائية . أطروحة دكتوراه - كلية الزراعة جامعة بغداد.
مصادر الشبكة الدولية للمعلومات

| ت | الموقع الموضوع التاريخ | الموقع |
|--------------|------------------------------|--|
| (Int. Net 1) | الموقع الموضوع التاريخ | http://www.trib.com/~kombu/elixir.html . Kombucha Elixir Or Manchurian Tea. Kombucha Center Homepage. 9/1/2012 |
| (Int. Net 2) | الموقع الموضوع التاريخ | http://www.wkap.nl/journalhome.htm / 0969 – 0239 Cellulose 11/2/2012 |
| (Int. Net 3) | الموقع الموضوع التاريخ | http://www.Botany.com / Utexas. edu / fac staff / fac pages / mbrown / position 1. hom. Microbial Cellulose: Anew Resource for wood, paper, textile, food and specialty products. 11/11/2011 |

Aase. B . (2007) . Sebastian concaro, mats brittberg, paul gatenholm, bacterial cellulose as a potential meniscus implant, Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, Volume 1 Issue 5, Pages 406 – 408.

Anker, M.; Stading, M. and Hermansson, A . (2000) . Relationship between the microstructure and the mechanical and barrier properties of whey proteins . J. Agir . Food Chem. 48: 3806 – 3816.

- Backdahl, H. ; Helenius, G. ; Bodin, A. ; Nannmark, U. ; Johansson, B. and Risberg, B. (2006) . Mechanical properties of bacterial cellulose and interactions with smooth muscle cells. *Biomaterials.*, 27(9):2141–2149.
- Brigid, A.; Mckenna, D.; Mikkelsen, J.; Bernhard, W.; Michael, J.; Gidley, N. and Menzies, W. (2009) . Mechanical and structural properties of native and alkali-treated bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter xylinum* strain ATCC 53524, *Cellulose.*, 16:1047–1055.
- Budhiono, B.; Rosidi, A.; Taher, H. and Iguchi, M. (1999). Kinetic aspects of bacterial cellulose formation in nata-de-coco culture system, *Carbohydr. Polym.* 40 : 137–143.
- Cai, J . (2000) . Analysis of cellulolytic activities of chimeric proteins from *Clostridium cellulovorans*. M.Sc. Thesis, Department of Biotechnology, University of New South Wales.
- Chartes, J.P. (1981). The Aldrich library of Infra red spectra. 3rd ed. U.S.A. p.M235-7.
- Chawla, P. R.; Ishwar, B. B.; Shrikant A. S. and Rekha, S. S. (2009). Fermentative Production of Microbial Cellulose, *Food Technol. Biotechnol.* 47 (2) 107–124.
- Cheng , H.P.; Wang , P.M.; Chen, J.W. and Wu, W.T. (2002). Cultivation of *Acetobacter xylinum* in modified airlift reactor. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 35:125-132.
- Ciechanska, D.; Strnszczyk, H.; Kazimierzak, J.; Guzinska, K.; Pawlak, M., E.; Kozłowska , G.; Matusiak, G. and Dutkiewicz, M. (2002) .New Electro-acoustic Transducers Based on Modified Bacterial Cellulose . Abstracts, No.,1(36).
- Comstock, K.; Farrell, D.; Godwin, C. and Xi, Y. (2004). From hydrocarbons to carbohydrates: food packaging of the future. Website:<http://depts.washington.edu/poeweb/gradprograms/envmgt/symposium/> Green Packaging Report.
- Czaja, W.K.; Young, D.j.; Kawecki, M. and Brown Rm, Jr. (2007).The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications., *Biomacromolecules*, Jan,8(1):1-12.
- Denise, M. ; Rosilene, A. and Adenise, L. (2011) . Application of bacterial cellulose conservation of Minimally processed Fruits . *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial.*, 5(1):356-366.
- Dubey, V.; Saxena, C.; Singh, L.; Ramana, K. V. and Chauhan, R. S. (2002) . Separation and purification technology, 27, p. 163.
- Elegir, A.; Kindl, G.; Sadocco, P. and Orlandi , M. (2008). Development of antimicrobial cellulose packaging through laccase-mediated grafting of phenolic compounds G. Elegir *et al.* / *Enzyme and Microbial Technology* 43 : 84–92.
- Gennadios, A.; Brandenburg, A. H.; Weller, C. L. and Testin, R. F. (1993). Effect of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate films. *J. Agric. Food Chem.*, 41 (11): 1835-1839.

- George, J.; Ramana, K. V., Sabapathy, S. N.(2005). Jagannath, J. H., bava, A. S., International Journal of Biological Macromolecules., 37: p. 189.
- Holmes, D. (2004). Bacterial Cellulose. University of Canterbury Christchurch, New Zealand: Degree of Master of Engineering in Chemical and Process Engineer.
- Izadi, Z.; Nasirpour, A.; Izadi, M. and Izadi, T.(2012). Minireview reducing blood cholesterol by a healthy diet., International Food Research Journal 19(1): 29-37.
- Jeffrey. P .(2010) . Production design and evaluation of vascular grafts made of Bacterial cellulose., Department of Chemical and Biological Engineering Division of Industrial Biotechnology Chalmers University Of Technology Goteborg, Sweden.
- Karathanos, V.T.; Kanellopoulos, N.K. and Belessiotis V.G. (1996) . Development of porous structure during air drying of agricultural plant products. J Food Eng 29:167–183.
- Keshk, S. and Sameshima, K. (2006). Influence of Lignosulfonate on Crystal Structure and Productivity of Bacterial Cellulose in a Static Culture. Journal of Enzyme and Microbial Technology., 40: 4–8.
- Kitaoka, K.; Yamamoto, H.; Tani, T.; Hoshijima, K. and Nakauchi, M .(1997). Mechanical strength and bone bonding of a titanium fiber meshblock for intervertebral fusion. J Orthop Sci 2:106–113.
- Krystynowicz, A. ;Cazaja, W.; Wictorowska, A.; Goncalves. M.; Turkiewicz, M. and Bielccki, S. (2002) . Factors affecting the yield and properties of bacterial Cellulose. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 29:189-195.
- Kuan, C .; Jeffrey, M. and Ali, D. (2009) . Effect of different additives on bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* and analysis of material property., Department of Agricultural and Biological Engineering, The Pennsylvania State University, University Park, PA 16802, USA., 16:1033–1045.
- Luz, D. ; Carreno, P. ; Luis, A. and Alberto, C. (2006) . Effect of culture and purification conditions of physicochemical and transport properties In bacterial cellulose membranes . Biomaterial ., 27:145-151.
- Marabi, A. and Saguy, IS . (2004). Effect of porosity on rehydration of dry food particulates. J Sci Food Agric 84(10):1105–1110.
- Mark, P. S.; Haiyuan, P.; Seema, D. and Peter, G .(2007). Bacterial cellulose networks for reinforcement of polylactide., International Conference on Composite Materials. 16TH.
- Marlett, J.A.; Mc Burney, M.I. and Slavin, J.L.(2002). Position of the American Dietetic Association: Health implications of dietary fiber Journal of the American Dietetic Associat, 102:993-1000.
- Nakai, T.; Tonouchi, N.; Konishi, T.; Kojima, Y.; Tsuchida, T. and Yoshinaga , F.(1999). Enhancement of cellulose production by expression of sucrose synthase in *Acetobacter xylinum*. Proc Natl Acad Sci USA 96(1):14–18.

- Neelobon, S.; Jiraporn, B. and Suwanee, T. (2007). Effect of culture conditions on bacterial cellulose (BC) production from *Acetobacter xylinum* TSTIR 976 and physical properties of BC parchment paper. Suranaree J. Sci. Technol. 14(4): 357-365.
- Ng, C. C. Shyu, Y. T. (2004). Development and production of cholesterol- lowering Monascus-nata complex., World J. Microbial. Biotechnol. 20, 875–879. Retegi
- Pericles, N. M.; Sheila, C. R.; Oduvaldo, M. P.; Viciany, E. F.; Sara, L. R.; Joao, F.; and Fernanda, D. (2009). In vivo and in vitro evaluation of an *Acetobacter xylinum* synthesized microbial cellulose membrane intended for guided tissue repair, licensee BioMed Central Ltd.
- Retegi, N. G.; Pena, C.; Zuluaga, R.; Castro, C.; Ganán, P.; de la Caba, K. and Mondragon, I. (2010). Bacterial cellulose films with controlled microstructure–mechanical property relationships, Technologies Group, Polytechnic School, Europa 1, 20018 Donostia-San Sebastian, Spain., 17:661–669.
- Sasithorn, K. (2011). Antibacterial Activity of Formulated Fish Snack from Bacterial Cellulose, International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics IPCBEE vol.5:293-243.
- Sheng, C. and Ying, K. (2008). Application of bacterial cellulose pellets in enzyme immobilization, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 54 : 103–108.
- Sheu, C. F.; Wang, L. and Shyu, V. (2000). Fermentation of *Monascus purpureus* on Bacterial Cellulose-nata and the Color Stability of Monascus-nata Complex, journal of food science—vol., 65:342-345.
- Shuai, Z. and Jin L. (2011). Preparation and Properties of Bacterial Cellulose/Alginate Blend Bio-Fibers. Journal of Engineered Fibers and Fabrics Volume 6, Issue 3:69-72.
- Silverstein, R. M. and Webster, F. X. (1996). Spectrometric identification of organic compounds, 6th ed. John Wiley and Sons eds. Inc. U.S.A.
- Son, H. J.; Heo, M. S.; Kim, Y. G. and Lee, S. J. (2001). Biotechnol. Appl. Biochem., 33, p. 1.
- Svensson, A.; Nicklasson, E.; Harrah, T.; Panilaitis, B.; Kaplan, D. L.; Brittberg, M. and Gateholm, P. (2005). Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage. Biomaterials., 26: 419-431.
- Thawatchai, M.; Seiichi, T. and Ratana, R. (2007). Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing, Carbohydrate Polymers, doi:10.1016/j.carbpol. 7. (25):1-9.
- Weihua, T.; Shiru, J.; Yuanyuan, J. and Hongjiang, Y. (2010). The influence of fermentation conditions and post-treatment methods on porosity of bacterial cellulose membrane., World J Microbiol Biotechnol., 26:125-131.
- Wilfred, S. R. (2009). Biobased Packaging - Application in Meat Industry., Veterinary World, Vol.2(2): 79-82.