تعيين الظروف المثلى لانتاج السيليلوز من بكتريا FEA48 *Acetobacter xylinum* المعزولة من الخل

الهام اسماعيل الشمري محمد عمر محي الدين عامر حميد الدهان

الملخص

درست الظروف المثلى لانتاج السيليلوز من عزلة محلية لبكتريا ***A.xylinum* FEA.48** المعزولة من خل الدبس، واظهرت النتائج ان سكر الفركتوز بتركيز **4%** وسكر الكلوكوز بتركيز**3 %** أفضل مصدرين للكاربون، إذ بلغت كمية السيليلوز المنتجة **4.75** غم /لتر و **2.15**غم/ لتر على التوالي، ولوحظ ان المصادر العضوية للنتروجين هي الافضل في إنتاج السيليلوز. اذ وجد ان خلاصة الخميرة وبتركيز**0.8%** تمثل أفضل مصدراً للنتروجين، فقد بلغت الانتاجية **6.5** غم/لتر و **4.0** غم/ لتر بأستخدام مصدري الكاربون المذكورين سابقاً وعلى التوالي. نميت العزلة بدرجات حرارة مختلفة، وأثبتت الدراسة أن أفضل درجة حرارة لأنتاج السيليلوز من البكتريا هي **30** م^{o}، في حين اوضحت النتائج أن أفضل رقم هيدروجيني أبتدائي لوسط الانتاج هو**6.5** و**7.0** لوسطي الفركتوز والكلوكوز على التوالي. كما تبين أن أستخدام **60** مل من الوسط الحاوي على الفركتوز و**80** مل من الوسط الحاوي على الكلوكوز أدى الى أحداث زيادة في كمية السيليلوز المنتجة وكانت بحدود **6.95** غم/ لتر و **4.98**غم/لتر على التوالي. ولدراسة تأثير التهوية في كمية السيليلوز المنتجة أستخدمت حاضنة هزازة بسرعة **150** دورة في الدقيقة، مما تسبب في خفض الانتاج سواء أكان في وسط الفركتوز أم الكلوكوز الى **4.5** غم/لتر و **2.2**غم/لتر على التوالي مع مراعاة الظروف المثلى المذكورة أنفاً. ولتحديد الحجم الامثل للقاح أستخدمت مستويات مختلفة من اللقاح وأظهرت النتائج ان تلقيح الوسط بلقاح حجمه **9 %**، إذ يحوي المل الواحدعلى10^{6} خلية/ مل اعطى اعلى إنتاجية، إذ بلغت كمية السيليلوز المنتجة **8.34** غم/لتر و **6.38** غم/لتر بأستخدام الفركتوز والكلوكوز على التوالي. درس تأثير تدعيم وسط الانتاج في بعض المركبات العضوية وهي الايثانول وحامض الخليك وحامض الماليك وحامض السكسنيك، فوجد أن تدعيم الوسط بالايثانول بتركيز **1.2%** أدى الى حصول زيادة واضحة في كمية السيليلوز المنتجة بلغت **12.9** غم/لتر و**5 .10** غم/لتر بأستخدام الفركتوز والكلوكوز على التوالي، ولوحظ ان اعلى كفاءة لانتاجية السيليلوز تحققت في اليوم الرابع من الحضن في وسط يمثل الفركتوز أساس مصدر الكاربون فيه، اذ بلغت نسبة الزيادة **36.0%** بينما تحققت أفضل كفاءة للإنتاج باستخدام الكلوكوز في اليوم الثالث من الحضن، اذ بلغت **38.8%**.

المقدمة

يعد السيليلوز البكتيري النقي المنتج من قبل بكتريا ***Acetobacter xylinum*** من البوليمرات الحيوية الفريدة في تركيبها الجزيئي **(molecular structure)** وقوتها الميكانيكية **(mechanical strength)** وثباتها الكيميائي **(chemical stability)** (**5**). مما يجعله ذا أثر فعال فيما يسمى اليوم بتكنولوجيا السكريات المتعددة الجديدة التي ازدهرت، ولاقت اهتماماً كبيرًا في السنوات الأخيرة لتواكب التقانات المتقدمة في

جزء من اطروحة دكتوره للباحث الاول.

كلية الزراعة– جامعة بغداد– بغداد، العراق.

صناعة مختلف المنتجات ولتلبي رغبات المستهلك المتجددة والاحتياجات الصناعية، إذ إن التطبيقات الرئيسة لمنتجات هذه التكنولوجيا المتقدمة تتمثل باستخدامها كمثخنات ومثبتات ومواد رابطة ومواد مجلتنة (14).

تعد بكتريا ***Gluconacetobacter xylinum*** من أفضل الانواع البكتيرية لانتاج السيليلوز على المستوى التجاري بأستخدام مواد متنوعة في الانتاج، تعد الظروف البيئية من النقاط المهمة المؤثرة في انتاج السيليلوز كماً ونوعاً إضافة إلى التأثير في الصفات المورفولوجية (الشكلية) له. وقد درس تأثير العديد منها في انتاج السيليلوز من قبل بكتريا ***A.xylinum***، منها مصدر الكاربون والنتروجين ودرجة الحرارة والرقم الهيدروجيني ومدة الحضن والتهوية وغيرها من الظروف البيئية الاخرى (17). ينتج السيليلوز البكتيري بالعديد من الطرائق منها الساكنة والمتحركة اضافة الى أستخدام المفاعلات الحيوية او المخمرات في عملية الانتاج، وتختلف خواص السيليلوز المنتج بأختلاف طريقة الانتاج، إذ يتكون السيليلوز في الطريقة الساكنة بشكل طبقات من الاغشية الرقيقة تأخذ شكل الوعاء الذي وضعت فيه، اما السيليلوز المنتج بالطريقة المتحركة ليكون بشكل اغشية وانما يكون كتلة هلامية تشبه الطين (13).اما المفاعلات الحيوية فقد استخدمت انواع مختلفة منها وطورت بعضها للحصول غلى انتاجية عالية من السيليلوز، فقد استخدم مفاعل الاقراص الدوارة **Rotary Disks Reactor (RDR)** و **Rotary Biofilf Contactor (RBC)** و المفاعل ذو الفلتر الدوار بسرعة معينة **Bioreactor equipped with spin filter** الذي اعطى انتاجية اكثر بمقدار **2.9** مرة عن الطرق التقليدية، كما استخدمت مفاعلات تحوي على اغشية من السيليكون **Reactor with silicone membrans** الذي اعطى ايضا كمية مضاعفة من السيليلوز مقارنة بالطرق التقليدية (8).

هدف البحث الى دراسة الظروف المثلى للحصول على أكبر كمية من السيليلوز المنتج من العزلة المحلية **FEA 48** . ***Acetobacter xylinum*** لما يمتلكه هذا النوع من السيليلوز من خواص كيميائية وفيزيائية وتركيبية فريدة تميزه عن غيره من أنواع السيليلوز الاخرى.

المواد وطرائق البحث

البكتريا: عزلت بكتريا ***Acetobacter xylinum* FEA48** محلياً من خل الدبس كما ورد في الشمري(2). نميت العزلات على وسط **Tomato serum medium** وحضنت يدرجة حرارة **30** م مدة **48** ساعة. حفظت عينة منها في الثلاجة لحين الاستخدام، وحفظت بعضها بالتجميد بدرجة حرارة **–18** م بعد اضافة **10%** كليسيرول معقم لمرتين.

وسط الانتاج: أستخدم وسط (**Hestrin – Schram medium (HS –medium** المحضر حسب الطريقة المذكورة من قبل **Son** وجماعته (**18**)، والمكون من**20**غم/ لتر **Glucose** ، **5** غم/ لتر **Peptone** ، **5** غم/ لتر **Yeast extract** ، $Na_2HPO_4.\ 12H_2O$.

حضر اللقاح بنقل مسحة بإبرة التلقيح من مزارع العزلات المنتجة للسيليلوز بعمر **48** ساعة إلى أنبوبة اختبار تحوي **9** مل من ماء البيتون، رجت الأنابيب جيدا" وحضرت منها سلسلة تخافيف عشرية على ماء البيتون أيضا". حسب عدد البكتريا في اللقاح بطريقة الصب في الأطباق وباستخدام الوسط (**YGC**) باستثناء كاربونات الكالسيوم $CaCO_3$ والحضن في **30** م^0 مدة **48** ساعة. واستخدم التخفيف المناسب كلقاح في عملية إنتاج السيليلوز **(18).**

أستعملت طريقة المزارع الساكنة **Static cultures** لإنتاج السيليلوز، إذ لقحت دوارق زجاجية سعة **300** مل حاوية على **50** مل من وسط الإنتاج **(HS –medium)** بمقدار **2.5** ميلليتر من اللقاح، بحيث يحوي المل الواحد على تقريباً 10^6 خلية/ مل. حضنت الدوارق بدرجة **30** لمدة **7** أيام **(18).** .

تم الحصول على السيليلوز النقي حسب الطريقة التي ذكرها **Son** وجماعته (**18**) ، التي تتلخص بترشيح مكونات الوسط بعد انتهاء مدة الحضن وغسل المتبقي منها على ورقة الترشيح بالماء المقطر مرتين إلى ثلاث مرات وبعدها إضافة كمية من المحلول القاعدي (هيدروكسيد الصوديوم **0.5** مولر) والحضن في حمام مائي بدرجة حرارة **90** م مدة ساعة واحدة، وإعادة غسله بالماء المقطر مرات عدة لحين الوصول إلى حالة التعادل، وجفف بدرجة حرارة **105** م لحين ثبوت الوزن.

درس تأثير عدد من العوامل في تحديد الظروف المثلى لإنتاج السيليلوز من العزلة ***Acetobacter xylinum* FEA. 48** تضمنت مصدر الكاربون وتركيزه ومصدر النتروجين وتركيزه والرقم الهيدروجيني الابتدائي لوسط الإنتاج ودرجة الحرارة وحجم الوسط حجم اللقاح والتهوية وتأثير الايثانول وبعض الأحماض العضوية ومدة الحضن، وقد تم تحضير حجم اللقاح وإنتاج السيليلوز واستخلاصه وفق الفقرات المذكورة أنفاً.

درس تأثير عدد من مصادر الكاربون في إنتاج السيليلوز واشتملت على الفركتوز والسكروز والكالاكتوز واللاكتوز والمالتوز فضلاً عن الكلوكوز بتركيز **2%** في وسط الإنتاج.

درس تأثير تراكيز مختلفة من الكلوكوز والفركتوز كأفضل مصدرين للكاربون انتخبا من التجربة السابقة في وسط الإنتاج وتراوحت من **1 – 10%** وبفارق **1%** بين تركيز وأخر.

استبدل مصدري النتروجين وهما البيتون ومستخلص الخميرة في وسط الإنتاج بمصادر نتروجينية عضوية اخرى وهي مستخلص المالت **malt extract** او مستخلص اللحم **meat extract** او التربتون **tryptone** او البيتون لوحده اومستخلص الخميرة **yeast extract** بتركيز **0.5%** او احد المصادر اللاعضوية وهي كلوريد الامونيوم وكبريتات الامونيوم. وأضيفت المصادر المذكورة إلى وسط الإنتاج بتركيز **0.5%** مع الأخذ بنظر الاعتبار التركيز الامثل لمصدر الكاربون المتمثل بالكلوكوز والفركتوز اللذان تم تحديدهما في ضوء الفقرة السابقة.

درس تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص الخميرة تراوحت من**0.1 – 1.0%** وبفارق **1%** بين تركيز واخر كأفضل مصدراً للنتروجين انتخب من التجربة السابقة في وسط الإنتاج.

استعمل وسط الإنتاج في هذه التجربة مع الأخذ بنظر الاعتبار التركيز الامثل لمصدري الكاربون والنتروجين في إنتاج السيليلوز وبناء" على نتائج التجارب المذكورة أنفا". إذ حضر الوسط بأرقام هيدروجينية تراوحت ما بين **5–9** بفارق نصف درجة من وسط لأخر لتحديد الرقم الهيدروجيني الامثل لإنتاج السيليلوز.

حضن وسط الإنتاج الملقح بالبكتريا بدرجات حرارية مختلفة تراوحت من**20–45** م^0 بفارق **5** درجات حرارية من وسط لأخر ومدة **7** أيام لتحديد درجة الحرارة المثلى لإنتاج السيليلوز مع مراعاة الظروف المثلى المتحققة من التجارب السابقة.

لقحت إحجام مختلفة من وسط الإنتاج تراوحت من **30– 100** مليلتر بفارق **10** مليلتر من وسط لأخر لتحديد الحجم الامثل لإنتاج السيليلوز مع الأخذ بنظر الاعتبار الظروف المثلى المذكورة أنفاً.

حضن وسط الإنتاج الملقح بالبكتريا في حاضنة هزازة على سرعة **150** دورة/ دقيقة لدراسة تأثير التهوية في إنتاج السيليلوز مع مراعاة الظروف المثلى المتحققة في التجارب السابقة وقورنت النتائج مع الانتاج في مزرعة ساكنة.

أضيف الايثانول وبعض الأحماض العضوية التي شملت حامض اللاكتيك والخليك والماليك والسكسنيك بتركيز 0.2% إلى وسط الإنتاج للتعرف على تأثيرها في إنتاج السيليلوز مع مراعاة الظروف المثلى المتحققة في التجارب السابقة.

أضيف الايثانول لوسط الإنتاج بتراكيز متدرجة تراوحت بين 0–2 وبفارق 0.2% من تركيز إلى أخر وذلك بعد تعقيم وتبريد الوسط مع مراعاة الظروف المثلى المتحققة في التجارب السابقة.

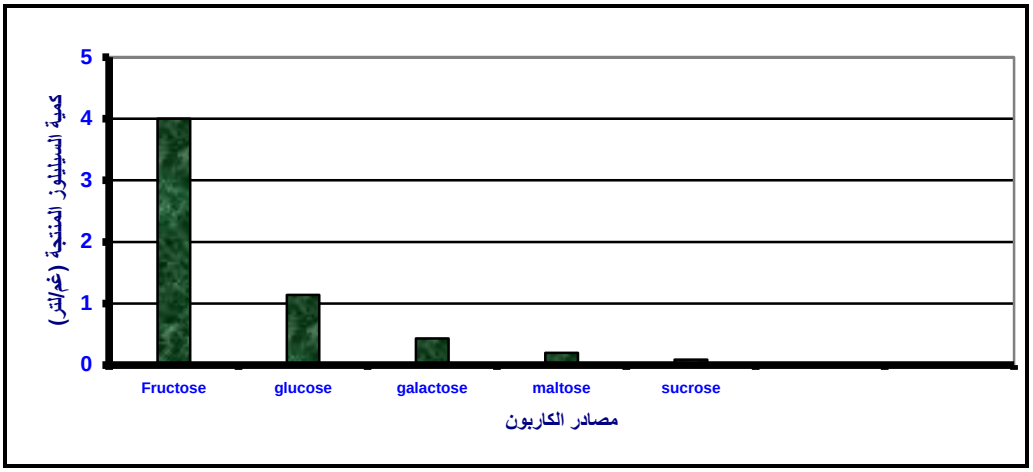
تمت متابعة إنتاج السيليلوز من البكتريا قيد الدراسة في الظروف المحددة في ضوء التجارب السابقة على مدى 240 ساعة من الحضن بدرجة حرارة 30 م وذلك بتقدير كمية السيليلوز، كما قدر تركيز السكريات المتبقية حسب الطريقة التي ذكرها Dubois وجماعته (6) وباستخدام جهاز المطياف Spectrophotometer وعلى طول موجي 540 نانوميتر بالاستعانة بمنحنى قياسي لسكري الكلوكوز والفركتوز، واستخرجت كفاءة كما يأتي:

$$\text{كفاءة الانتاج} = \frac{\text{Cellulose}}{\text{السكريات المستهلكة}} \times 100$$

النتائج والمناقشة

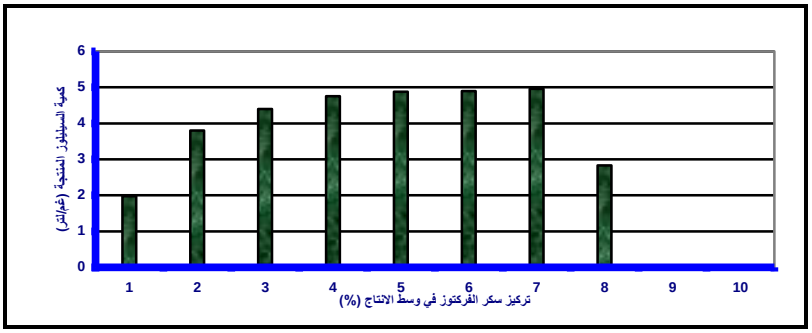
درس تأثير عدد اً من العوامل البيئية في إنتاج السيليلوز من العزلة المحلية ***Acetobacter xylinum*** **FEA 48**، اذ يوضح شكل 1 تأثير عدد من مصادر الكاربون في إنتاج السيليلوز من بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA 48** ويلاحظ إن استخدام الفركتوز حقق اعلى انتاجية من السيليلوز مقارنة بالسكريات الأخرى، إذ بلغت كمية السيليلوز المنتجة 4.00 غم/لتر، يليه الكلوكوز بكمية إنتاج مقدارها 1.40 غم/لتر فالكالكتوز0.5 غم/لتر والمالتوز0.2 غم/لتر والسكروز0.09 غم/لتر. اما إنتاج البكتريا من السيليلوز في وسط اللاكتوز فكان معدوماً. لذلك تم اختيار الفركتوز كأفضل مصدراً للكاربون لإنتاج السيليلوز في التجارب اللاحقة يرافقه الكلوكوز لأنه من أكثر السكريات الرخيصة والشائعة لاسيما في المخلفات والمصادر الصناعية وهناك العديد من الدراسات التي أشارت إلى أفضلية الفركتوز بوصفه مصدراً للكاربون لإنتاج السيليلوز من بعض سلالات بكتريا ***Acetobacter*** منها الدراسة التي أشار أليها **Bielecki** وجماعته (5)، إلى إن اعلى كمية سيليلوز منتجة من البكتريا ***Acetobacter*** **ssp.** ***sucrofermentans*** **BPB2001** كانت باستخدام الفركتوز مصدرا" للكاربون، إذ أنها تظهر فعالية عالية لإنزيم **phosphoglucoisomerase** ، وتمتلك نظام **phosphotransferases** المعتمد على **phosphoenolpyruvrate**، إذ يحفز النظام تحول الفركتوز إلى **fructose - 1- phosphate** وبعدها إلى **fructose – 1, 6- diphosphate**، كما وجد في دراسة أخرى إن الكلوكوز والفركتوز والاينولين (**Inulin**) والمانتول والكالاكتوز تمثل مصادر كاربون جيدة لبكتريا ***Gluconoacetobacter hansenii*** في إنتاجها للسيليلوز مع وجود اختلافات معنوية فيما بينها من حيث وزن غشاء السيليلوز المنتج، إلا إن اكبر كمية من السيليلوز كان قد أمكن إنتاجها على وسط يمثل الفركتوز مصدر الكاربون الوحيد فيه(16). اما النتائج التي حصل عليها **Keshk** و **Sameshima** (9) فقد وجد إن اعلى إنتاجاً للسيليلوز من بكتريا ***Gluconoacetobacter xylinum*** **ATCC 10245** ***(Acetobacter)*** يتحقق باستخدام الكلسيرول مصدرا" للكاربون وان معدلات استهلاك مصادر الكاربون تؤثر في كمية السيليلوز المنتج وليس على نوعه فحسب. وأشارت دراسة أخرى إلى إن استخدام الارابيتول والمانتول يؤديان إلى زيادة في إنتاج اكبر بواقع 6.2 و 3.8 مرة، على التوالي مقارنة مع الكلوكوز (15). أشار **Okiyama** وجماعته (12) إلى إن استخدام كل من المانتول والارابيتول مصادرا" للكاربون أدى إلى

الحصول على مستويات عالية من السيليلوز المنتج من بكتريا ***Acetobacter xylinum*** في المزارع الساكنة. في حين وجدوا **Kim** وجماعته (**10**) عند دراستهم للظروف المثلى لإنتاج السيليلوز من العزلة ***Gluconoacetobacter*** **sp. RKY 5** في المزارع الساكنة والهزازة، إن اعلى إنتاجية تم الحصول عليها باستخدام الكلسيرول مصدرا" للكاربون في وسط مدعم بحامض الخليك ، إذ بلغت **4.6** غم/لتر و **5.6** غم/لتر في المزارع الساكنة والهزازة على التوالي.

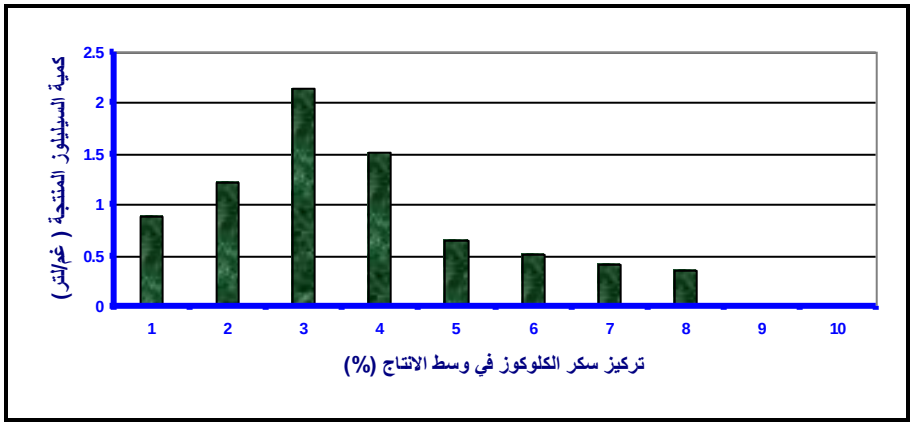


شكل **1**: تأثير مصادر الكاربون المختلفة في انتاج السيليلوز من بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA48** بدرجة حرارة **30**م° وبرقم هيدروجيني **6.5** في مزرعة ساكنة مدة **7** ايام.

يلاحظ من شكل 2 إن إضافة الفركتوز إلى وسط الإنتاج بالتراكيز من **3%** – **7%** حققت إنتاجية عالية ومتقاربة من السيليلوز تراو حت من **4.40** غم/ لتر إلى **4.96** غم/ لتر ولوحظ وجود فرق في الإنتاجية بين التركيز **4%** التي بلغت **4.7** غم/ لتر والتركيز **3%** والتي بلغت **4.1** غم/ لتر وفرق ضئيل بينه وبين التراكيز الأكثر وحتى التركيز **7%** ، إذ بلغت الانتاجية **4.88** و **4.96** و **4.99** غم/لتر للتراكيز **5%** و **6%** و **7%** على التوالي. ولتحقيق موازنة اقتصادية بين كمية الفركتوز المضافة إلى الوسط وبين إنتاج السيليلوز فقد وقع الاختيار على التركيز **4%**، بينما لوحظ في شكل**3** إن أعلى إنتاجية للسيليلوز باستخدام الكلوكوز تتحقق عند التركيز **3%** ، إذ بلغت **2.15** غم/ لتر وهي ضعف كمية السيليلوز المستحصل عليها بتركيز **2%** كلوكوز أيضاً الذي يمثل التركيز المستخدم في وسط انتاج السيليلوز. ولوحظ حدوث تدهور في إنتاجية السيليلوز بزيادة تركيز الكلوكوز عن **3%** وبلغت **1.52** غم/ لتر عند التركيز **4%**و **0.35** غم/ لتر عند التركيز **8%** ربما بسبب أكسدة جزء كبير من الكلوكوز إلى حامض الكلوكونك وتراكمه بكميات كبيرة وزيادة حموضة الوسط فينتج عنها تثبيط إنتاج السيليلوز (**15**). كما أشار كل من **Heo**و **Son** (**7**)، إلى انخفاض إنتاجية السيليلوز البكتيري بزيادة التركيز الأولي للكلوكوز في مزارع الدفعات وأوصى البدء بتراكيز منخفضة عند الشروع بالإنتاج. في حين أشار **Bae** و**Shoda** (**4**)، إلى إن استخدام الفركتوز بتركيز **4.99%** في وسط يحوي على شراب نقيع الذرة والآكر **Agar** بنسبة **0.38%** أدى إلى الحصول على **14.3** غم / لتر من السيليلوز باستخدام بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **BPR 2001** وهي أعلى كمية أمكن الحصول عليها عند دراسة للظروف المثلى لإنتاج السيليلوز.كما اشار **Massaoka** وجماعته (**11**)، إلى انخفاض كمية السيليلوز المنتجة من بكتريا ***Acetobacter xylinum*** بزيادة تركيز الكلوكوزعن **4%** في وسط الإنتاج.



شكل 2 : تأثير تركيز الفركتوز في انتاج السيليلوزمن بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA48** بدرجة حرارة **30**م° وبرقم هيدروجيني **6.5** في مزرعة ساكنة مدة **7** ايام.

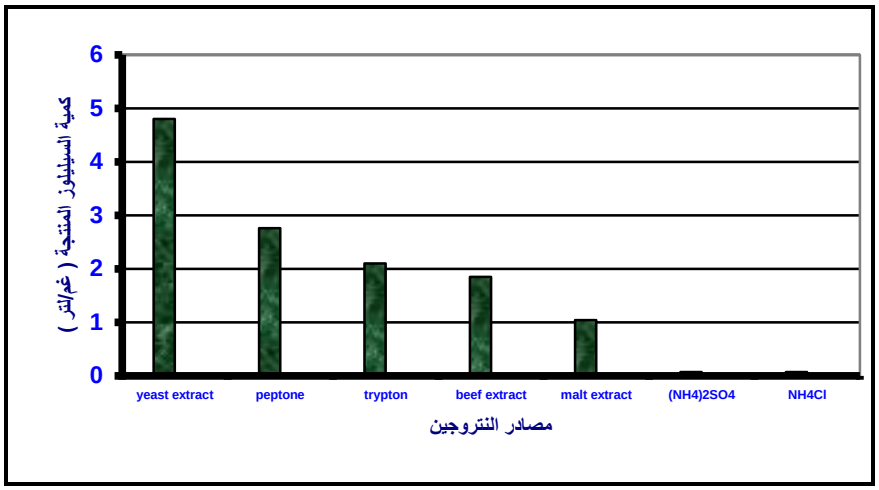


شكل**3**: تأثير تركيز الكلوكوز في انتاج السيليلوزمن بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA48** بدرجة حرارة **30**م° وبرقم هيدروجيني **6.5** في مزرعة ساكنة مدة **7** ايام.

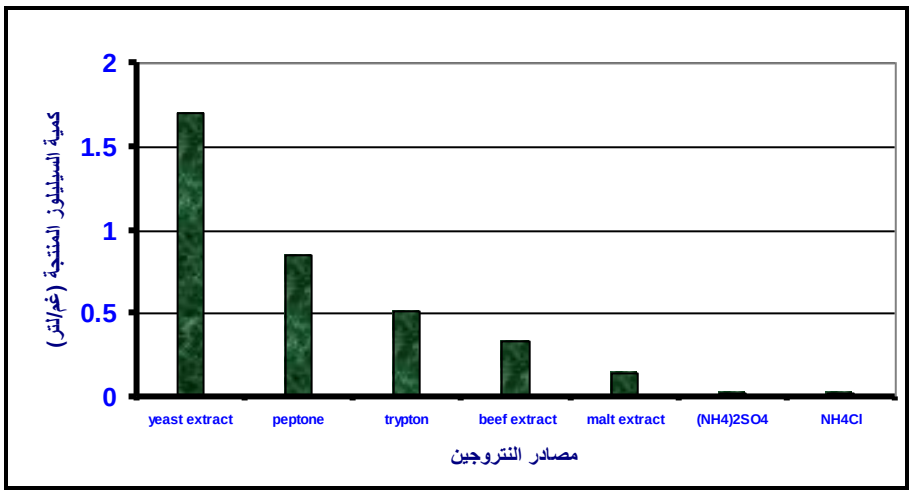
اختبر تأثير مجموعة مصادر نتروجينية في إنتاج السيليلوز من العزلة المحلية لبكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA 48** منها ما هي عضوية وشملت على خلاصة الخميرة والببتون والتربتون وخلاصة اللحم وخلاصة المالت، ومنها غير عضوية وهي كبريتات الامونيوم $(NH_4)_2SO_4$ وكلوريد الامونيوم NH_4Cl وبتركيز **0.5%** لكل منهما وعلى انفراد.

يوضح الشكلان (**4** و **5**)، إن أفضل إنتاجية من السيليلوز تتحقق باستخدام خلاصة الخميرة **yeast extract** مصدرا" للنتروجين في الوسط، ،إذ بلغت **3.8** غم/لتر و **1.7** غم/لتر باستخدام كل من الفركتوز والكلوكوز كمصادر للكاربون، على التوالي. يليها الببتون فالتربتون. كما يلاحظ من شكل **5** انعدام قدرة العزلة ***Acetobacter xylinum*** **FEA 48** على إنتاج السيليلوز بتدعيم الوسط بمصادر نتروجينية لا عضوية، في حين تم الحصول على كمية قليلة جدا" كان من الصعب استرجاعها عند استخدام الفركتوز مصدرا" للكاربون. هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه في الحصول على أعلى إنتاجية للسيليلوز باستخدام خلاصة الخميرة يليها الببتون المتعدد **polypeptone** ثم سائل شراب الذرة **corn steep liquor** فالتربتون **tryptone** مصادر عضوية للنتروجين، في حين لم يلاحظ تكون أية كمية من السيليلوز عند استخدام مصادر نتروجينية لا عضوية مثل كبريتات الامونيوم وكلوريد الامونيوم ونترات البوتاسيوم وذلك من العزلة ***Acetobacter*** **sp. A9** في المزارع المتحركة. درس تأثير تركيز أفضل مصدر نتروجين المتمثل بمستخلص الخميرة في إنتاج السيليلوز كما موضح في الشكلين(**6**) و(**7**)، إذ يلاحظ إن أعلى إنتاجية للسيليلوز كانت بإضافة خلاصة الخميرة بتركيز **0.8%** ، إذ بلغت كمية السيليلوز المنتجة **6.5** غم/لتر و **4.00**

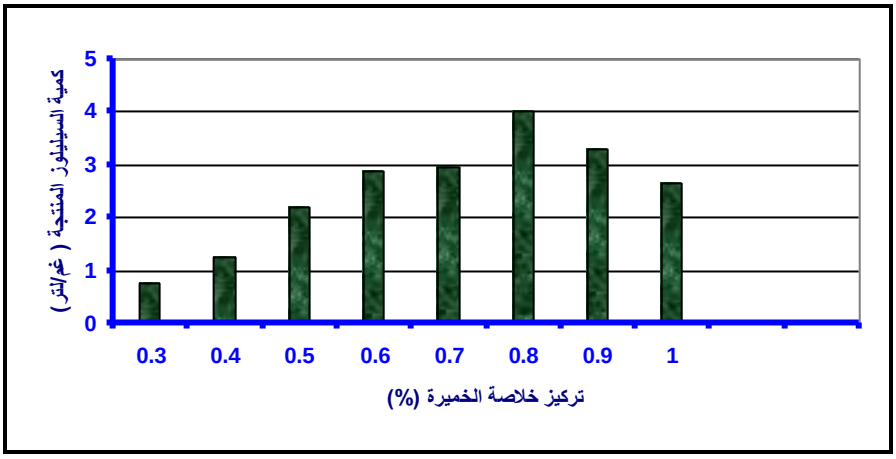
غم/لتر في وسط يحتوي على الفركتوز والكلوكوز، على التوالي. في حين وجد Son وجماعته (18)، إن خلاصة الخميرة بتركيز 0.1% أفضل إنتاجية من السيليلوز. كما وجد كل من Heo و Son(7)، تحقق استخدام كبريتات الامونيوم بتركيز 0.3% تحقق أعلى إنتاجية من السيليلوز مقارنة مع المصادر اللاعضوية الأخرى المختبرة في تلك الدراسة. كما أوضح كل من Bae و Shoda (4)، الى إن استخدام سائل نقيع الذرة بتركيز 2.85% في وسط يحوي على الفركتوز مصدرا" للكاربون أعطى أعلى إنتاجية للسيليلوز ،إذ بلغت 14.3 غم/لتر باستخدام بكتريا *Acetobacter xylinum* BPR 2001 .



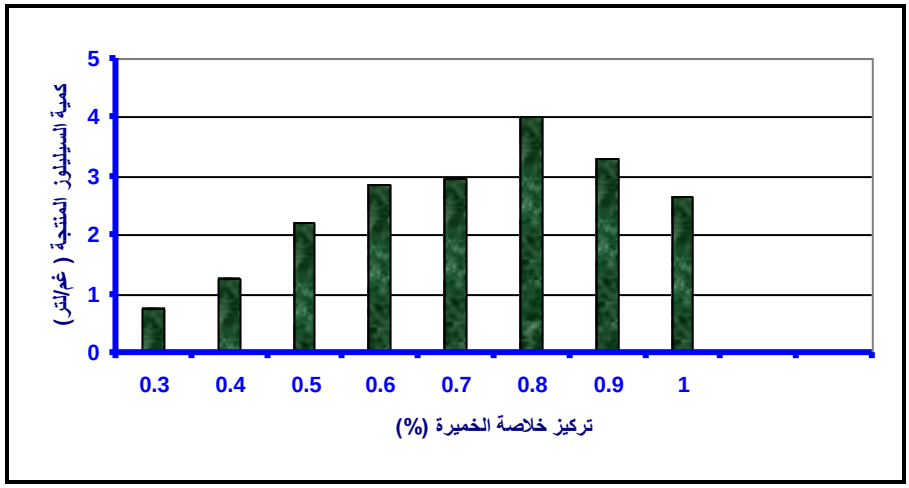
شكل4: تأثير مصدر النتروجين في انتاج السيليلوزمن بكتريا *Acetobacter xylinum* FEA48 بأستعمال الفركتوز بتركيز 4% بدرجة حرارة 30م° وبرقم هيدروجيني 6.5 في مزرعة ساكنة مدة 7 ايام.



شكل 5 : تأثير مصدر النتروجين في انتاج السيليلوزمن بكتريا *Acetobacter xylinum* FEA48 بأستعمال الكلوكوز بتركيز 3% بدرجة حرارة 30م° وبرقم هيدروجيني 6.5 في مزرعة ساكنة مدة 7 ايام.

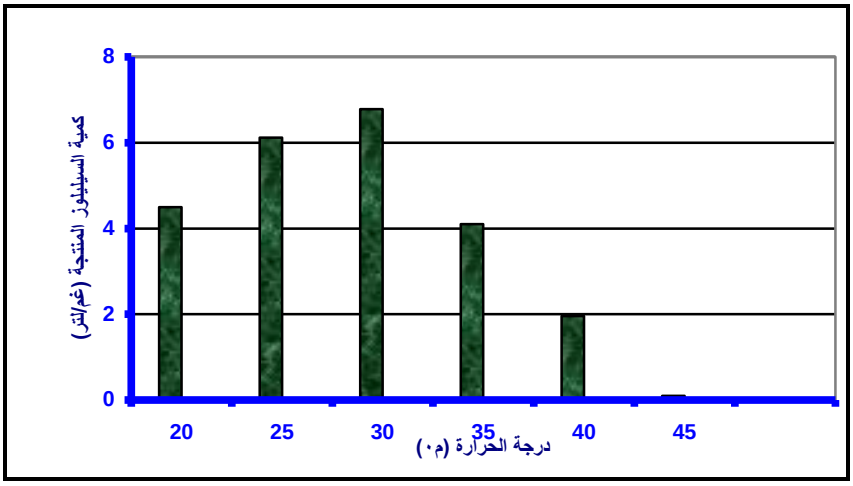


شكل 6 تأثير التراكيز المختلفة من خلاصة الخميرة في انتاج السيليلوزمن بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA48** بأستعمال الفركتوز بتركيز 4%بدرجة حرارة 30م° وبرقم هيدروجيني 6.5 في مزرعة ساكنة مدة 7 ايام.

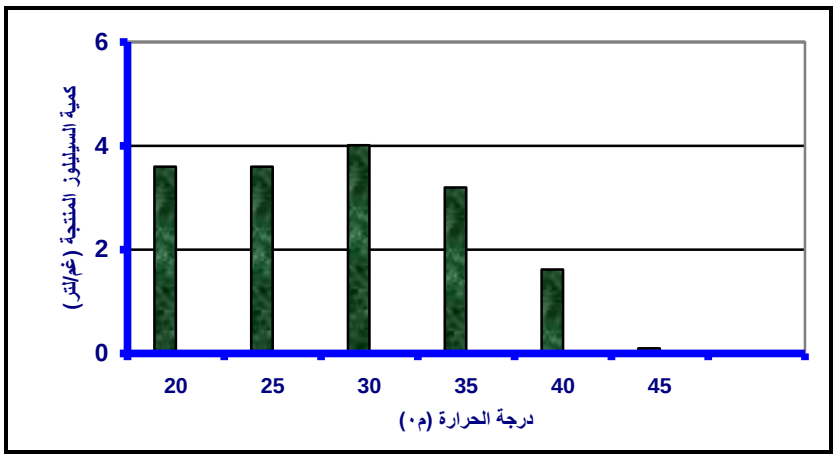


شكل 7 : تأثير التراكيز المختلفة من خلاصة الخميرة في انتاج السيليلوزمن بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA48** بأستعمال اكلوكوز بتركيز 3%بدرجة حرارة 30م° وبرقم هيدروجيني 6.5 في مزرعة ساكنة مدة 7 ايام.

يوضح الشكلان (8 و9) تأثير درجات الحرارة المختلفة التي تراوحت بين 20م – 45م في إنتاج السيليلوز من العزلة ***Acetobacter xylinum*** **FEA 48** باستخدام الفركتوز والكلوكوز مصدرين للكاربون. إذ يلاحظ إن درجة الحرارة المثلى لإنتاج السيليلوز من الفركتوز والكلوكوز بلغت 30م، إذ بلغت كمية السيليلوز المنتجة في الوسط الحاوي على الفركتوز مصدرا" للكاربون 6.78 غم/لتر وفي الوسط الحاوي على الكلوكوز 4.01 غم/لتر. ولوحظ انحدار شديد في مستويات إنتاج السيليلوز عند تنمية البكتريا قيد الدراسة في درجات الحرارة ألاعلى من 30 م حتى أنه قد توقف تماما" عند 45 م^{0}.وتتطابق هذه النتائج مع ما توصل إليه Son وجماعته (18)، بعدم وجود فروق معنوية في كمية السيليلوز المنتج بدرجتي حرارة 25 م و 30 م مع أفضلية الثانية على الأولى وحصول انخفاض في إنتاجية السيليلوز عند رفع درجة الحرارة إلى 35م. وقد أشار كل من Anderson و Smith (3)، بان درجة الحرارة تعد عاملا" مهما" في تحديد نشاط الأحياء المجهرية المختلفة والسيطرة على كل فعاليات البناء والهدم الحيوي لتلك الأحياء.

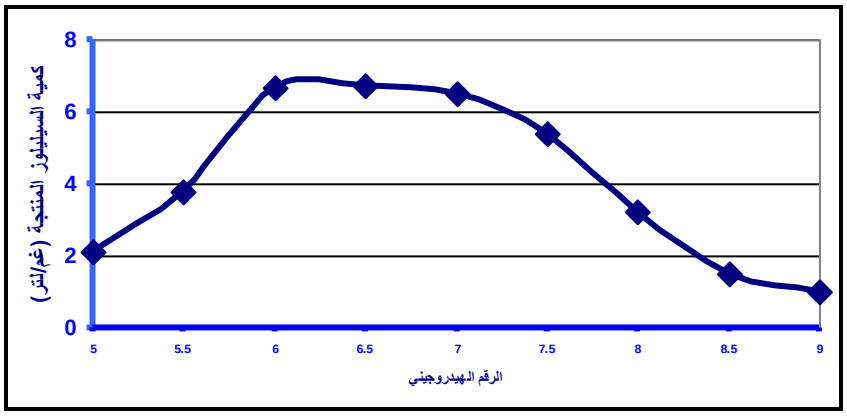


شكل8 : تأثير درجة الحرارة في انتاج السيليلوزمن بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA48** بأستعمال الفركتوز بتركيز 4% وبرقم هيدروجيني 6.5 في مزرعة ساكنة مدة 7 ايام.

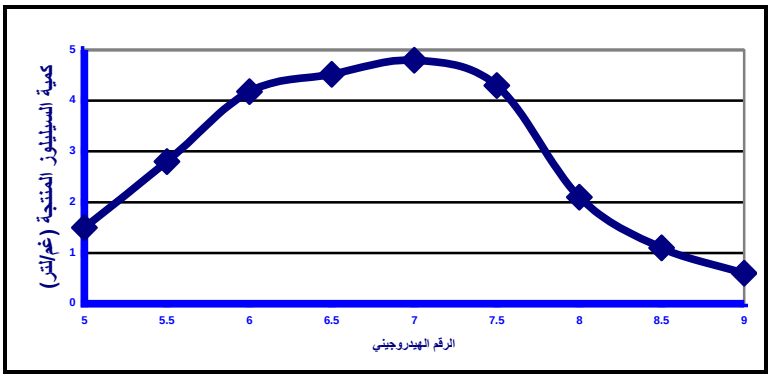


شكل 9 تأثير درجة الحرارة في انتاج السيليلوزمن بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA48** بأستعمال اكلوكوز بتركيز 3% وبرقم هيدروجيني 6.5 في مزرعة ساكنة مدة 7 ايام.

يبين الشكلان(10 و 11) إن الأرقام الهيدروجينية المثالية لإنتاج السيليلوز تتراوح ما بين 6 - 7 وما بين 6 – 7.5 عند استخدام الفركتوز والكلوكوز بوصفهما مصدرين للكاربون في وسط الإنتاج ،إذ تراوحت الانتاجية ما بين 6.50 – 6.76 غم/ لتر و4.18 – 4.80 غم/ لتر ،على التوالي. وكانت الإنتاجية القصوى عند الأرقام ألهيدروجينية 6.5 و 7 ، اذ بلغت 6.72 غم/ لتر و4.8 غم/لتر على التوالي. وتختلف الدراسات التي تحدد الرقم الهيدروجيني الأمثل لإنتاج السيليلوز، فقد أشار Son وجماعته (18)، إلى إن السيليلوز ينتج بكميات مقبولة بالأرقام الهيدروجينية التي تتراوح ما بين 4.5 – 7.5 مع أفضلية الإنتاج عند الرقم الهيدروجيني 6.5 من بكتريا ***Acetobacter sp.*** **A9** وذلك في المزارع المتحركة واستخدام الكلوكوز مصدرا" للكاربون. في حين أشار Jung وجماعته (8)، إلى إن أفضل رقم هيدروجيني لإنتاج السيليلوز من بكتريا ***Acetobacter xylinum*** باستخدام وسط يحوي على السكروز مصدرا" للكاربون والمدعم بعصير جوز الهند وبرقم هيدروجيني تراوح ما بين 4 – 5.

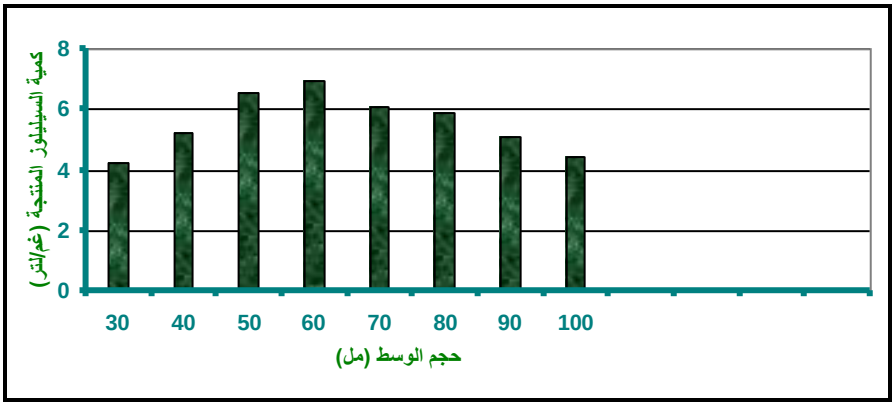


شكل**10** تأثير الرقم الهيدروجيني للوسط في انتاج السيليلوزمن بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA48** بأستعمال الفركتوز بتركيز **4%** وبدرجة حرارة **30** م° في مزرعة ساكنة مدة **7** ايام.

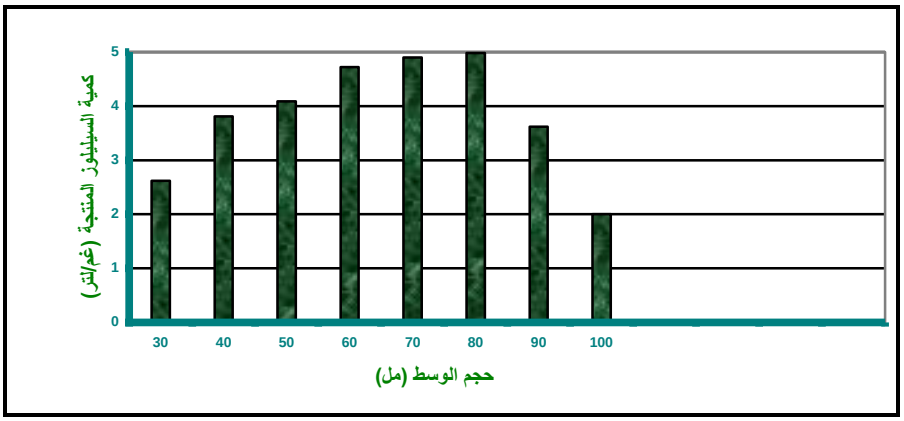


شكل**11**: تأثير الرقم الهيدروجيني للوسط في انتاج السيليلوزمن بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA48** بأستعمال الكلوكوز بتركيز **3%** وبدرجة حرارة **30** م° في مزرعة ساكنة مدة **7** ايام.

يوضح الشكلان(**12**و **13**) نتائج تأثير حجم الوسط في كمية السيليلوز المنتج باستخدام الفركتوز والكلوكوز بوصفهما مصدرين للكاربون في وسط الإنتاج. فقد لوحظ حصول زيادة في إنتاجية السيليلوز تحت ظروف التجربة سواء أكانت باستخدام الفركتوز في وسط الإنتاج وبتركيز**4%** (شكل **12**)، أم باستخدام الكلوكوز وبتركيز **3%** (الشكل**13**)، حتى أنها بلغت حدها الأقصى في وسط حجمه **60** مل فكانت تقريباً **6.95** غم/لتر في وسط الفركتوز، وفي وسط حجمه **80** مل وبوجود الكلوكوز بلغت **4.98** غم/لتر. لوحظ حدوث تدهور في إنتاجية السيليلوز وفي الوسطين معاً عند تجاوز حجوم الوسط الحدود المذكورة آنفا"، مع ملاحظة عدم وجود فرق كبير في كمية السيليلوز المنتجة عند استخدام حجوم تراوحت ما بين **60** إلى **80** مل باستخدام الكلوكوز مصدرا" للكاربون (شكل **13**). إن زيادة كمية الإنتاج بزيادة حجم الوسط قد يعود إلى زيادة المساحة السطحية ثم توفير كمية أوكسجين اكبر. وقد أشار **Son** وجماعته (**18**)، إلى إن أعلى كمية سيليلوز كانت باستخدام **75** مل من وسط الإنتاج المستخدم في الدراسة، مع ملاحظة قلة الدراسات في هذا المجال عدا الدراسة المشار اليها.

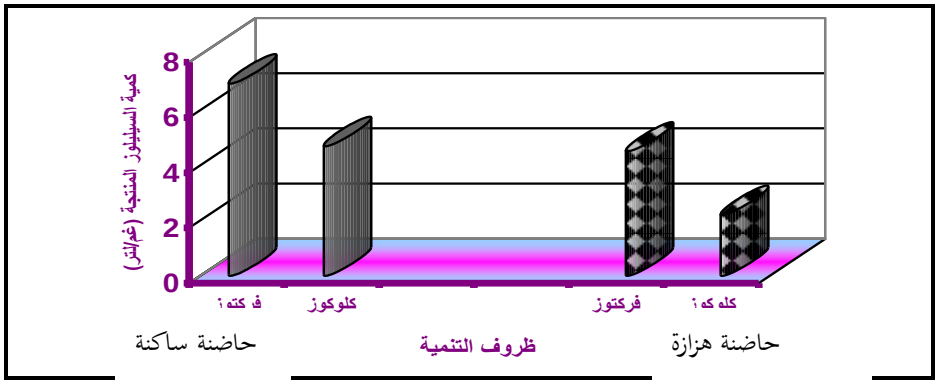


شكل 12تأثير حجم الوسط في انتاج السيليلوزمن بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA48** بأستعمال الفركتوز بتركيز **4%** وبدرجة حرارة **30** م° في مزرعة ساكنة مدة **7** ايام.



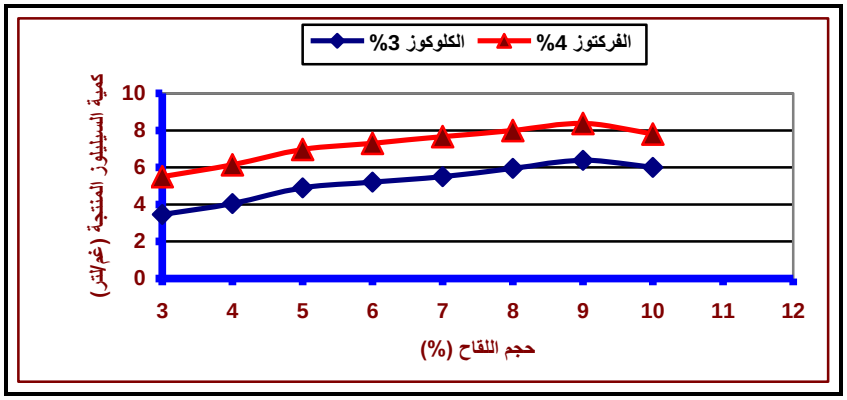
شكل **13**: تأثير حجم الوسط في انتاج السيليلوزمن بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA48** بأستعمال الكلوكوز بتركيز **3%** وبدرجة حرارة **30** م° في مزرعة ساكنة مدة **7** ايام.

يبين شكل **14** مقارنة بين إنتاجية السيليلوز من بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA 48** في حاضنة متحركة بسرعة مقدارها **150** دورة / دقيقة وفي مزرعة ساكنة وباستخدام الفركتوز بتركيز **4%** والكلوكوز بتركيز **3%** وبدرجة حرارة **30** $م^0$. فقد وجد إن هنالك انخفاض واضح في كمية السيليلوز المنتجة عند استعمال كلا مصدري الكاربون في الحاضنة الهزازة مقارنة مع المزارع الساكنة، إذ انخفضت من **6.96** غم/لتر في المزرعة الساكنة إلى **4.5** غم/لتر في الحاضنة الهزازة وباستخدام الفركتوز مصدرا" للكاربون ومن **4.69** غم/لتر إلى **2.2** غم/لتر باستخدام الكلوكوز مما يعني إن عملية التهوية تؤثر سلبياً في إنتاج السيليلوز. وقد أشار **Toyosaki** وجماعته (**19**)، إلى إن إنتاجية السيليلوز تكون واطئة أو قليلة نسبيا" في المزارع المتحركة ومزارع التهوية **(shaking and agitated culture)** مقارنة مع المزارع الساكنة ويعتقد إن لهذه الظاهرة علاقة وثيقة بتوليد الطفرات السالبة لإنتاج السليلوز **cel^{-1}** في المزارع المتحركة أو ذات التهوية، فضلا" عن حصول تغييرات في الصفات المورفولوجية والتركيبية للسيليلوز البكتيري بسبب قوى القص العالية أثناء عملية التهوية. وتعد الدراسة التي قام بها **Toyosaki** وجماعته (**19**)، واحدة من الدراسات القلائل التي حصلوا فيها على العزلة ***Acetobacter xylinum*** **sub sp.*Sucrofermentanse* BPR 2001** ذات الإنتاجية العالية للسيليلوز في المزارع الهزازة وقاموا بدراسة الظروف المثلى لإنتاج السيليلوز منها.



شكل **14**: مقارنة بين إنتاجية السيليلوز من البكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA 48** في حاضنة هزازة بسرعة **150** دورة / دقيقة وحاضنة ساكنة بدرجة حرارة **30** م° لمدة **7** ايام

استخدمت مستويات مختلفة من حجم اللقاح في تلقيح وسط إنتاج السيليلوز من البكتريا قيد الدراسة، وأظهرت النتائج الموضحة في شكل **15** إن أعلى إنتاجية أمكن الحصول عليها كانت عند تلقيح الوسط بلقاح حجمه **9%**، الذي يحتوي المل الواحد منه على 10^6 خلية / مل، وبلغت كمية السيليلوز المنتجة **8.34** غم/لتر و **6.38** غم/لتر باستخدام الفركتوز والكلوكوز بتركيزي **4%** و **3%**، على التوالي علما" بان حجم اللقاح كان **5%** عند الشروع بهذه الدراسة وحتى هذه المرحلة. ولوحظ حدوث انخفاض في كمية السيليلوز بزيادة حجم اللقاح، ويعزى ذلك إلى احتمال حدوث تنافس على العناصر الغذائية ثم عرقلة نمو بعض خلايا البكتريا لكثرة عددها، إذ يجب إن يكون هناك تناسب بين حجم اللقاح وحجم الوسط الزرعي. وفي الدراسة التي قام بها **Son** وجماعته (**18**)، وجد ان لا تأثير لحجم اللقاح في إنتاج السيليلوز باستخدام العزلة ***Acetobacter sp.*** **A9** في المزارع المتحركة. وقد أشارت الخفاجي (**1**)، إلى إن لحجم اللقاح المضاف أهمية أساس، وان كان معدا" بشكل جيد جدا" فليس من المفضل البدء بكمية صغيرة جدا" من اللقاح، إذ انه يؤدي إلى تغيير العملية التصنيعية أو احتمال توقفها نتيجة لتحلل الخلايا القليلة المضافة، ومن جهة أخرى فان حجم وسط الانتاج ونوع الإحياء المستعملة يحددان كمية اللقاح الواجب إضافتها.



شكل **15**: تأثير حجم اللقاح في انتاج السيليلوزمن بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA48** بأستعمال الفركتوز بتركيز **4%**و الكلوكوز بتركيز **3%** وبدرجة حرارة **30** م° في مزرعة ساكنة مدة **7** ايام.

درس تأثير إضافة الايثانول وبعض الأحماض العضوية التي اشتملت على كل من حامض الخليك **Acetic acid** واللاكتيك **Lactic acid** والماليك **Malic acid** والسكنيك **Succinic acid** بتركيز **0.2%** في إنتاج السيليلوز من بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **FEA 48**. إذ أظهرت النتائج الموضحة في جدول**1** إن إضافة هذه

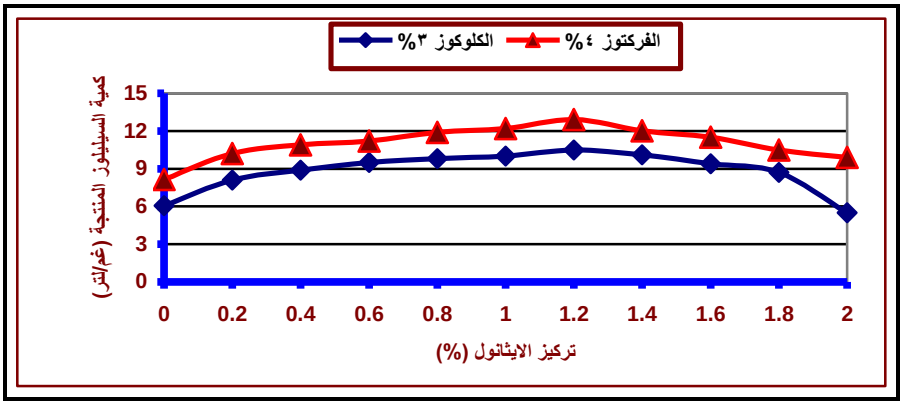
المركبات جميعها إلى وسط الإنتاج قد أحدثت زيادة في إنتاج السيليلوز، بلغت أقصاها بوجود الايثانول في الوسط ثم بوجود حامض الخليك فحامض اللاكتيك إذ بلغت كمية السيليلوز المنتجة **10.8** غم/لتر و**9.61** غم/لتر و**9.39** غم/لتر، على التوالي باستعمال الفركتوز بتركيز **4%** مصدرا" للكاربون. في حين بلغت **8.9** غم/لتر و **7.18** غم/لتر و**7** غم/لتر، على التوالي باستعمال الكلوكوز مصدرا" للكاربون. كما يوضح جدول **1** النسبة المئوية للزيادة في الإنتاجية على اساس الانتاجية بدون اضافة المواد المذكورة، إذ يلاحظ زيادة نسبة الانتاج الى **129.5** و **115.26** و **112.6** % باستعمال الفركتوز مصدرا" للكاربون، وإلى**139.5** و **112.5** و **109.7** % باستعمال الكلوكوز مصدرا" للإنتاج بإضافة الايثانول وحامض الخليك وحامض اللاكتيك على التوالي ويمكن ارجاع هذه الزيادة الى سلالات البكتريا من نوع ***Acetobacter xylinum*** المنتجة للسيليلوز تتميز بفعالية عالية لأنزيم **uridine diphosphoglucose pyrophosphorylase** المسؤول عن إنتاج **UDP –glucose** الممهد لتخليق السيليلوز من الكلوكوز ستستهلك تلك المواد لانتاج الطاقة اللازمة لنمو وبناء السيليلوز بدلا" من استهلاك الكلوكوز في انتاج الطاقة. خاصة وان بعض هذه المواد تمثل مركبات وسطية في دورة كريب **TCA** والبعض الاخر مركبات تجد طريقها عبر خطوات محدودة الى هذه الدورة **(6)**، كما وان هذه المركبات تؤدي إلى اختزال **NDAH**، مما يخفض من جهد الاختزال ويوفر ظروفا" جيدة لإنتاج السيليلوز. وتتطابق النتائج المستحصل عليها مع ما توصل إليها **Son** وجماعته (**18**)، بزيادة انتاجية السيليلوز بإضافة الايثانول ثم حامض البايروفيك بتركيز **0.2%** الى **5.42** غم/لتر و **5.11** غم/لتر، على التوالي في المزارع المتحركة مقارنة مع الانتاجية البالغة **2.87** غم/لتر في الوسط الخالي من كليهم.

جدول **1**: تأثير بعض المركبات العضوية في إنتاج السيليلوز من البكتريا **48 FEA** ***Acetobacter xylinum*** وتقدير نسبة الزيادة في الإنتاجية باستعمال الفركتوز أو الكلوكوز مصدرا" للكاربون*

المواد المضافة بتركيز 0.2%	كمية السيليلوز (غم/لتر) باستعمال الفركتوز مصدرا" للكاربون	الإنتاجية %	كمية السيليلوز (غم/لتر) باستعمال الكلوكوز مصدرا" للكاربون	الإنتاجية %
بدون إضافة	8.34	100	6.38	100
Ethanol	10.80	129.50	8.90	139.50
Acetic acid	9.61	115.20	7.18	112.50
Lactic acid	9.39	112.60	7.00	109.71
Malic acid	9.28	111.27	6.65	104.23
Succinic acid	9.31	111.63	6.82	106.89

* تمت مراعاة الظروف المثلى التي حددت من التجارب السابقة

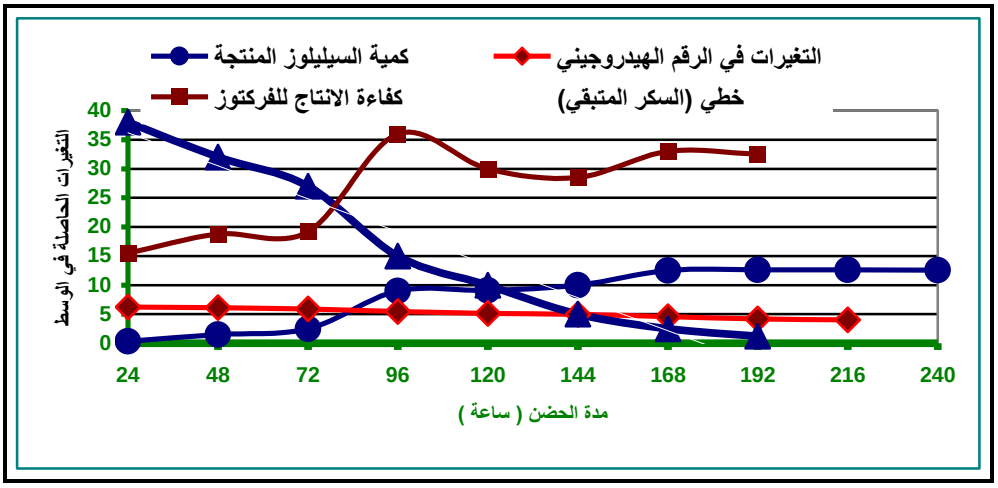
في ضوء النتائج المستحصل عليها صممت تجربة لدراسة تأثير تراكيز مختلفة من الايثانول تراوحت من **0.2%** - **2%** في إنتاج السيليلوز. فتبين إن إضافة الايثانول بتركيز **1.2%** تحقق اعلى إنتاجية من السيليلوز، فقد بلغت **12.9** غم/لتر و **10.5** غم/لتر باستعمال الفركتوز والكلوكوز بوصفهما مصدرين للكاربون، على التوالي (شكل **15**). في حين أشار **Son** وجماعته (**18**)، إن افضل تركيز من الايثانول هو **1.4%** للحصول على اعلى كمية من السيليلوز من البكتريا **Aq** ***Acetobacter sp.*** في المزارع المتحركة. وقد وجدوا إن زيادة تركيز الايثانول عن **1.5%** في وسط الإنتاج يؤدي إلى تثبيط نمو بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **sub sp.*Sucrofermentanse*** **BPR 2001** لتكون الخلات **acetate**. كما أشار **Son** وجماعته (**18**)، إلى إن إضافة الايثانول إلى وسط الإنتاج في المزارع المتحركة يحول دون تحول السلالات المنتجة للسيليلوز Cel^+ إلى سلالات سالبة الإنتاج للسيليلوز Cel^-، ومع ذلك مازالت تلك الملاحظة تحتاج إلى مزيد من الدراسات للتحقق منها.



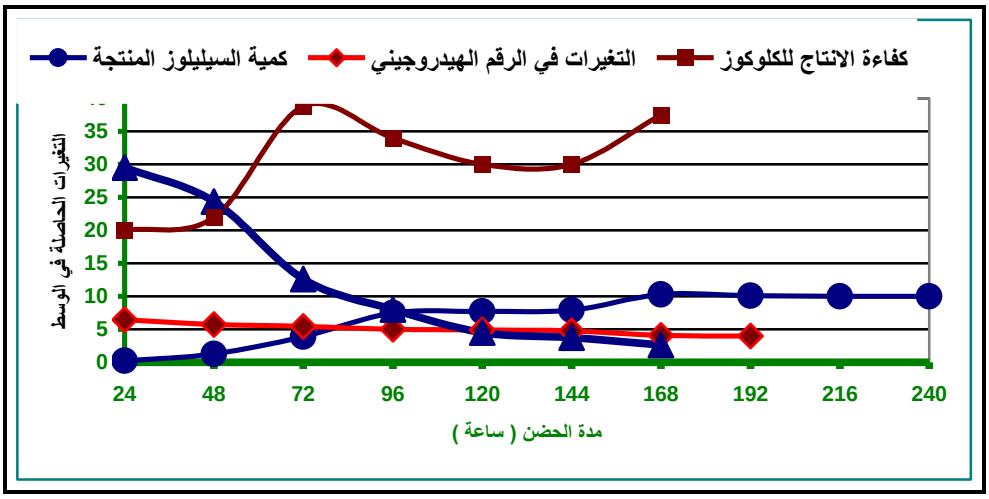
شكل 16: تأثير تراكيز مختلفة من الايثانول في انتاج السيليلوزمن بكتريا ***Acetobacter xylinum* FEA48** باستعمال الفركتوز بتركيز **4%**و الكلوكوز بتركيز **3%** وبدرجة حرارة **30** م° في مزرعة ساكنة مدة **7** ايام.

يوضح شكل (**16**) الزمن الأمثل لإنتاج السيليلوز من العزلة قيد الدراسة، فقد لوحظ حصول زيادة مضطردة في إنتاجية السيليلوز في كلا وسطي الإنتاج وحتى نهاية اليوم السابع (بعد **168** ساعة)، إذ بلغت في الوسط الحاوي على الفركتوز **12.5** غم/لتر. استمرت هذه الزيادة بإطالة زمن الحضن ولكن بوتيرة محدودة لم تتجاوز **12.75** غم/لتر في نهاية اليوم التاسع من الحضن (أي بعد **216** ساعة). ولوحظ ان كمية الفركتوز المستهلكة بعد سبعة ايام من الانتاج **37.5** غم/ لتر بعد ان كانت **40** غم/ لتر عند الشروع بالانتاج مما يعني ان كفاءة الانتاج قد بلغت **32.5%** أي ان البكتريا تستهلك **93.75%** من مصدر الكاربون المتوفر في الوسط لانتاج السيليلوز والطاقة. تم التوصل إلى النتيجة نفسها في وسط الكلوكوز (شكل **17**)، إذ لوحظ إن إنتاجية السيليلوز تصل ذروتها في نهاية اليوم السابع (بعد **168** ساعة) من زمن الحضن، وبلوغ الإنتاجية **10.3** غم من السيليلوز / لتر من الوسط مع ملاحظة ثبوت الإنتاجية أو حصول تدهور ضئيل فيها في حالة استمرار الحضن. وبلغت كمية الكلوكوز المستهلكة بعد سبعة ايام من الانتاج **27.4** غم/ لتر من اصل **30** غم/ لتر عند الشروع بالانتاج وبذلك تبلغ كفاءة الانتاج **37.5%** أي ان البكتريا تستهلك **91.33 %** من الكلوكوز لانتاج السيليلوز والطاقة للقيام بالفعاليات الحيوية. ولوحظ من نتائج هذه التجربة ان اعلى كفاءة انتاج كانت بعد **96** ساعة من الحضن وبلغت **36%** وبعد **73** ساعة من الحضن وبلغت **38.8%** للفركتوز والكلوكوز، على التوالي ، وبالرغم من تكون غشاء السيليلوز بصورة كاملة بعد فترتي الحضن هذه، ألّا إنها لوحظ بالامكان الحصول على غشاء وبسمك مناسب عند الاستمرار بالحضن لحين الوصول الى **168** ساعة، أي بامكان الخلايا البكتيرية الاستمرار باضافة طبقات من الشبكة المتبلورة للسيليلوز على الغشاء المتكون ولكن بكفاءة اقل وبمواصفات غشاء افضل، لذلك استمرت التجارب اللاحقة جميعها بالحضن لمدة **168** ساعة ومن ذلك يمكن الاستنتاج بان البكتريا ***Acetobacter xylinum* FEA 48** تتميز بقدرتها على تكوين السيليلوز منذ الشروع بطور النمو اللوغاريتمي والى طور الركود. مما يعني إن الزمن الأمثل لإنتاج السيليلوز في كلا الوسطين هو نهاية اليوم السابع (بعد **168** ساعة). وبهذا الصدد أشار **Son** وجماعته (**19**)، إلى وجود توافق زمني بين الزيادة في إنتاج السيليلوز وزيادة اعداد البكتريا المستخدمة في الانتاج، إذ لوحظ بدء تكون السيليلوز بعد **24** ساعة من تلقيح الوسط ببكتريا ***Acetobacter sp. Aq*** في المزارع الهزازة وان أعلى كمية من السيليلوز تتكون بعد مرور **8** أيام من الحضن بدرجة حرارة **30** $م^0$. كما أشار الباحثون أنفسهم إلى إن إنتاج السيليلوز من خلايا بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **IFO 13693** يبدأ عند وصول هذه الخلايا إلى طور الركود في المزارع الساكنة في وسط يحوي الكلوكوز مصدرا" للكاربون، مع ملاحظة الانخفاض المستمر بالرقم الهيدروجيني لكلا الوسطين، إذ كان الانخفاض في وسط الكلوكوز

أكثر مما هو عليه الحال في وسط الفركتوز ، وقد يكون هذا احد الأسباب التي أدت إلى زيادة الإنتاجية باستخدام الفركتوز مصدرا" لإنتاج السيليلوز.



شكل 17 :التغييرات الحاصلة في وسط انتاج السيليلوز من الفركتوز أثناء المراحل المختلفة من زمن الحضن.



شكل 18: التغييرات الحاصلة في وسط انتاج السيليلوز من الكلوكوز أثناء المراحل المختلفة من زمن الحضن.

المصادر

1- الخفاجي، زهرة محمود (1990) . التقنية الحيوية، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – جامعة بغداد، العراق.

2- الشمري، الهام اسماعيل (2007) .انتاج السيليلوز من بكتريا *Acetobacter xylinum* المعزولة محليا ودراسة بعض خواصه.أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد، العراق.

3- **Anderson, J.G. and J.E. Smith (1976). Effect of temperature on 4-filamentous fungi. In: Inhibition and inactivation of vegetative microbes .Symposim Society for Applied Bacteriology (ed.By F.A. Skinner and W.G. Hugo) PP.191-218. London and New York, Academic Press**

4- Bae, S. and M. Shoda (2005). Statistical optimization of culture condition for bacterial cellulose production using Box-Behnken design. Biotechnol. Bioeng., 90(1): 8-20

5- Bielecki, S.; A. Krystynowicz; M. Turkiewicz and H. Kalinowska (2005). Bacterial Cellulose, In: Polysaccharides and polyamides in the food industry: Production, and patents. edited by Al-Exdnder Steinb Jchel, Sany Ki Rhee.

6-[Dubois, M.; K.A Gills; J.K. Hamilton; P.A. Rebers and F. Smith (1956). Colorimetric method for determination of sugar and related substances. J. Anal. Chem., 28:350-356.

7- Heo, S.M. and H.J., Son (2002). Development of an optimized, simple chemically defined medium for bacterial cellulose production by *Acetobacter* sp.Aq in shaking cultures. Biotechnol. Appl. Biochem., 36: 41-45.

8- Jung, J.; T. Khan; J. Park and H. Chang (2007). Production of bacterial Cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* using novel bioreactor equipped with Spinfilter. Korean J. Chen. Eng., 24:265-271.

9- Keshk, S.M. and K. Sameshima (2005). Evaluation of diffrent carbonsources for Bacterial Cellulose production . African Journal of Biotechnology, 4(6): 478-482.

10- Kim, J. ; S. Kim; Y. Wee; D. Park and W. Ryu (2006). Optimizoation of Bacterial cellulose production using Gluconacetobacter sp. RKY 5 Isolated from persimmon Vinegar (By Int).

11- Massaoka, S.; T. Ohe and N. Sakato, (1993). Production of cellulose from Glucose by *Acetobacter xylinum*. J. Ferm.Bioeng., 75(1): 18-22.

12- Okiyama, A.; H. Shirae; H.Kano and S. Yamanaka (1995). Bacterial cellulose , Two- Stage fermentation process for cellulose productin by *Aceobacter aceti* . Food Hydrocolloids, 6:471-477.

13- Norhayati, B. (2009). Rotary discs reactor for enhanced production of microbial cellulose. M. of Eng., Universiti Teknologi, Malaysia.

14- Panesar, P.S.; Y.V. Chavan; M.B. Bera; O. Chand and H. Kumar, (2009). Evaluation of Acetobacter Strain for the Production of Microbial Cellulose. Asian Journal of Chemistry, 21 (10):99-102.

15- Schramm, M. and S. Hestrin (1954). Factors affecting production of cellulose at the Air/Liquid interface of a culture of *Acetobacter xylinum*. J.Gen. Microbiol., 123-129.

16- Sharon, B. and W. Jonathan, (2005). Abstract: cellulose production by *Gluconoacetobacter hansenii.*Effect of carbon source and camellia sienenis (tea) extract.(By Int).www. sied.science.doe.gov/sied/ Abstracts/ORN/bio.html.

17- Sherif, M.A.S.; M.A. Taha and S. Kazuhiko (2006). Bacterial cellulose production from beet molasses. African Journal of Biotechnology, 5 (17): 1519-1523 .

18- Son, J.H.; M.S. Heo; Y.G. Kim and S.J. Lee (2001). Optimization of fermentation condition for the production of bacterial cellulose by anewly isolate Acetobacter sp.Aq in shaking cultures. Biotechnol. Appl. Biochem., 33: 1-5.

19- Toyosaki, H.; T. Naritomi; A. Seto; M. Matsuoko; T. Tsuchida and F. Yoshinga, ,(1995). Screening of Bacterial cellulose-producing acetobacter strains suitable for agitated culture Biosci. Biochem. Biotech., 59(8): 1498-1502.

EVALUATION OF THE OPTIMAL CONDITIONS FOR CELLULOSE PRODUCTION FROM *Acetobacter xylinum* FEA 48 ISOLATED FROM VINEGAR

E.E. Al-shamary M.O. Mohy- Aldeen A.H. Aldahan

ABSTRACT

The optimal condition for production of cellulose from local isolate *Acetobacter xylinum* FEA 48, isolated from date syrup vinegar were studied . The obtained results revealed that 4% fructose and 3% glucose were the best carbon sources, the produced cellulose were 4.75 g/l and 2.15 g/l respectively. It was also found that organic nitrogen was the best for producing cellulose, as yeast extract with 0.8% concentration represented best nitrogen source .The productivity was 6.5 g/l and 9.0 g/l using the aforementioned carbon source respectively.

The optimum temperature for cellulose production from the isolate was 30c°, the optimum initial pH was 6.5 and 7 for both fructose and glucose media respectively. It was also found that using 60 ml of media contained fructose and 80 ml of media contained glucose resulted an increase in produced cellulose that valued 6.95 and 4.98g/l respectively. The effect of aeration on cellulose productivity was studied using shaking incubator at 150 RPM, and caused productivity drop for both fructose and glucose and valued 4.5 and 2.2g/l considering the above mentioned optimum condition. The effect of enrichment of production media with organic compounds that were ethanol, acetic acid, malic acid, succinic acid. It was found that 1.2% ethanol resulted high increase in produced cellulose that valued 12.9 and 10.5g/l for fructose and glucose respectively. It was also found that highest productivity was achieved on the fourth day of incubation in fructose media, the increase valued 36%. The optimum productivity with glucose media achieved at the third day of incubation and valued 38.8%.

Part of Ph. D. Thesis for the first author.
College of Agric. - Baghdad Univ. – Baghdad, Iraq.