مجلة الزراعة العراقية (البحثية) مجلد16 عدد1 ص138-146 تموز/2011

انتاج السيليلوز من المولاس بأستخدام بكتريا *Acetobacter xylinum* AJ3

الهام أسماعيل الشمري

الملخص

درس انتاج السيليلوز من العزلة المحلية لبكتريا ***Acetobacter xylinum* AJ3** بأستخدام المولاس غير المهضوم والمهضوم بالحرارة والحامض والمهضوم بالمستخلص الخام لانزيم الانفرتيز، لوحظ حصول زيادة في كمية السيليلوز المنتجة مقارنة بكمية السيليلوز المنتجة من وسط **HS– medium** كمعاملة مقارنة، اذ بلغت كمية السيليلوز المنتجة في أوساط الانتاج الاربعة **1.52, 2.20 ,6.82 ,8.50** غم / لتر على التوالي . بينما بلغت اعلى قيمة للكتلة الحيوية **(3 , 3.5 ,5.0 ,5.5)** غم/لتر في الاوساط الاربعة على التوالي . في حين أزدادت كمية السيليلوز بأضافة الاكار و**CMC** بتركيز **0.2 %** الى اوساط الانتاج.

المقدمة

تعد الناحية الاقتصادية في العمليات التصنيعية الاساس في نجاح هذه العملية او فشلها، أذ لابد من أستخدام اقل التكاليف في المواد الخام المستخدمة في العملية التصنيعية للحصول على كمية أنتاج كبيرة وبمواصفات عالية الجودة.وعادة ما يستخدم السيليلوز للاغراض الصناعية من خشب النباتات بعد معالجته بالعديد من الخطوات الاولية اللازمة لتنقيته وقصره وغيرها من العمليات الاخرى مما يسبب تلوث لمختلف مكونات البيئة كالماء والهواء والتربة، فضلاً عن انتاج مركبات مثل **Polychlorinated dioxins** و **Furans** وبعض الفضلات العضوية **(6)** .هذا اتاح المجال للتفكير بمصادر جديدة للسيليلوز غير المصادر النباتية ، كانتاج السيليلوز البكتيري وخصوصا من بكتريا ***Gluconacetobacter xylinum*** التي تعد الافضل من بين الانواع البكتيرية الاخرى في انتاجها للسيليلوز على المستوى الصناعي **(15، 16)**. أن التطوير في مكونات الوسط مهمة جدا للتقليل من تكاليف انتاج السيليلوز البكتيري**(9)** وتعد عملية انتاج السيليلوز غالية نسبيا، أذ ان وسط **Hestien (SH- medium)** المستخدم في معظم الدراسات حول انتاج السيليلوز البكتيري غير اقتصادي على المستوى التجاري لانتاج السيليلوز، مما يعيق عملية أستخدامه تجاريا بدل السيليلوز النباتي رغم ما يتميز به من صفات فيزوكيميائية وريولوجية فريدة تميزه عن الانواع الاخرى من السيليلوز كنقاوته العالية وقوة الشد العالية والمتانة والمرونة والقدرة على الاحتفاظ بالشكل كما يمتلك السيليلوز البكتيري سعة عالية على حمل الماء، و يتميز بقابلية ترطيب عالية، كما تتميز اغشية السيليلوز البكتيري بانها رقيقة جداً وذات ألياف دقيقة جداً. ولاختزال تكاليف أنتاج السيليلوزالبكتيري لابد من أستخدام مصادر طبيعية كالنواتج العرضية لبعض الصناعات كصناعة السكر والنشا والذي ينتج عنهما المولاس وشراب الذرة **Corn seep liquor (CSL)** والتي تعد من المصادر الرخيصة جدا وفي الوقت ذاته مصادر جيدة للكاربون والنتروجين **(10،12)**.

تهدف هذه الدراسة الى انتاج السيليلوز البكتيري من العزلة المحلية لبكتريا ***Acetobacter xylinum* AJ3** بأستخدام المولاس كوسط للانتاج بمحاولة للحصول على كميات كبيرة من السيليلوز من مصادر رخيصة لفسح المجال لاستخدامه على المستوى التجاري والاستفادة من خواصه الفريدة.

كلية الزراعة – جامعة بغداد، بغداد العراق.

تاريخ تسلم البحث:ت**2010/1**

تاريخ قبول البحث:تموز/**2011**

المواد وطرائق البحث

بكتريا *Acetobacter*

تـــم الحصـــول على بكتريا ***Acetobacter xylinum* AJ3** والمعزولـــــة من عصيـــر التفـــاح في مختبرات كلية الزراعة/ جامعة بغداد. أجريت عملية التنشيط عدة مرات في مزرعة ساكنة بأستخدام وسط **HS-medium** بدرجة حرارة **28** مْ **(12)**.

المولاس

تم الحصول على المولاس من معمل أنتاج السكر في الموصل وأجريت عليه مجموعة من المعاملات الاوليـــة لاســـتخدامه كوسط لانتاج السيليلوز من بكتريا ***Acetobacter xylinum* AJ3** .

تقدير السكريات الكلية Total sugar

قدرت السكريات الكلية في المولاس حسب الطريقة التي وردت في **AOAC (1)**.

تقدير السكريات المختزلة Reducing sugar

قدرت السكريات المختزلة في المولاس حسب الطريقة التي وردت في **AOAC (1)**.

اوساط انتاج السيليلوز

1 – المولاس غيرالمعامل (الخام) : خفف المولاس **5** مرات (وزن / حجم) وعرض لعملية نبذ مركزي بمعـــدل**6000** دورة / دقيقة لمدة **20** دقيقة للتخلص من المواد الصلبة.

2- المولاس المعامل بالحامض والحرارة: تم معاملة المولاس بالحامض حسب الطريقة التي اوردها **Prashant** وجماعته **(8)** بتخفيف المولاس مع **5** مرات (وزن / حجم) بالماء المقطر وأجراء النبذ المركزي بمعدل **6000** دورة / دقيقة مـــدة **20** دقيقة لفصل المواد الصلبة بعدها عدل الرقم الهيدروجيني الى **3** بأستخدام حامض الكبريتك **(4N)**. سخن المـــزيج الى درجة حرارة **121** مْ لمدة **20** دقيقة وترك مدة **24** دقيقة وأعيدت عملية النبذ المركزي.

3- المولاس المعامل بالمستخلص الخام لانزيم الانفرتيز **crude invertase enzyme**:

تم معاملة المولاس بالمستخلص الخام لانزيم **invertase** حسب الطريقة الـــتي أوردهـــا **Dudman (5)**، بتخفيـــف المولاس بالماء بنسبة **1:2** **(1000** مل من المولاس مع **500** مل من الماء المقطر)، ثم أضيف له **200** مل من المستخلص الخام لانزيم الانفرتيز، حضن المزيج في درجة حرارة الغرفة لحين انتهاء الهضم. أضـــيف بعـــدها **bentonite** بنـــسبة **1%**، ثم غلي المزيج لمدة **20** دقيقة وأجريت بعدها عملية الترشيح لغرض الترويق.

4 - HS– medium : - حضـــــر وسط **HS– medium** حسب الطريقـــــة التي اوردهـــــــا **Son** وجماعتـــــه **(13)**.

خففت جميع اوساط المولاس بالماء المقطر بحيث أصبح التركيز النهائي للسكريات الكلية **5%** وعدل الرقم الهيدروجيني الى **5** ووزعت جميع الاوساط في دوارق سعة **300**مل يحوي الدورق الواحد على **100**مل من الوسط وعقمت بالمؤصدة في درجة حرارة**121** مْ وضغط **15** باوند / انج^2 لمدة **15**دقيقة. بردت الاوساط ولقحت جميعها بحجم لقاح **2%** بحيث يحوي المل الواحد من اللقاح على **10^7** خلية/ مل وحضنت في درجة حرارة **30** مْ لمدة **7** أيام.

تقدير كمية السيليلوز:

قدرت كمية السيليلوز حسب الطريقة التي اوردها **David** و **Melinda** **(4)** بوضع السيليلوز الناتج بعد أضافة **300** مل من محلول **NaOH** **(2%)** في المؤصدة في دقيقة حرارة**121** مْ لمدة **20** درجة وضغط **15** باوند / انج^2 ، بعدها أجريت معادلة للسيليلوز بحامض الكبريتك **(4N)** لحين الوصول الى التعادل. جفف السيليلوز الناتج بدرجة حرارة **105** مْ لحين ثبوت الوزن.

تقدير الكتلة الحيوية:

قدرت الكتلة الحيوية طيلة مدة الحضن حسب الطريقة التي اوردها **Joong** وجماعته **(8)**، بأخذ كميتين متساويتين من السيليلوز الرطب من كل وسط، عومل الجزء الاول مع **20** مل من محلول**NaOH** **(0.3N)** وفي درجة حرارة **100** مْ لمدة **5** دقائق للتخلص من البكتريا، ثم أجريت عملية الترشيح للتخلص من المواد الذائبة، بعدها أجريت عملية الغسل بالماء المقطر للجزء المتبقي على ورقة الترشيح لحين وصول الراشح الى نقطة التعادل، جفف السيليلوز في الفرن الحراري الهوائي لحين ثبوت الوزن. اما الجزء الثاني فقد جرى تجفيفه في فرن هوائي حراري لحين ثبوت الوزن وأستخرجت الكتلة الحيوية بأخذ فرق الوزن بين المعاملتين.

تقدير الرقم الهيدروجيني:

تم متابعة التغيرات الحاصلة في الرقم الهيدروجيني طيلة مدة الحضن بأستخدام جهاز **pH meter**.

تحسين كمية السيليلوز المنتجة من بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **AJ3** ببعض الاضافات لوسط الانتاج:

درس تأثير أضافة بعض المواد شملت الآكار وكاربوكسي مثيل سيليلوز والجينات الصوديوم الى أوساط الانتاج الاربعة وبتركيز **0.2%** لتقويم دورها في تحسين كمية السليلوز المنتجة.

النتائج والمناقشة

تقدير السكريات وتركيزالمواد الصلبة في المولاس:

يمثل جدول **(1)** محتوى المولاس من سكريات كلية ومختزلة ونسبة المواد الصلبة الذائبة، أذ يلاحظ أحتواءه على **61 %** سكريات كلية تمثل السكريات المختزلة **1.52 %** منها والباقي سكروز يمثل النسبة الاعلى. يعد المولاس أحد النواتج العرضية لصناعة السكر من القصب والبنجر السكري لذلك يعد من المصادر الرخيصة التي يمكن أستخدامها مصدر للكاربون في تنمية الاحياء المجهرية **(12)**. كما تشير العديد من المصادر الى أن المولاس غني بالبروتينات أذ تصل نسبتها فيه الى **4.8%** وبذلك يعد ايضا مصدرا جيدا للنتروجين يسهم في توفير المغذيات للبكتريا النامية **(9، 12، 14)**.

جدول 1: نسبة السكريات الموجودة في المولاس الخام والمعامل بالحامض والحرارة والمعامل بالمستخلص الخام لانزيم الانفرتيز

المكون	المولاس غير المعامل	المولاس المعامل بالحامض والحرارة	المولاس المعامل بالمستخلص الخام لانزيم الانفرتيز
السكريات الكلية (%)	**61**	**61**	**61**
السكريات المختزلة (%)	**1.52**	**58.8**	**60.7**
تركيز المواد الصلبة الذائبة (بركس)	**83 – 82**	-	-

تقدير كمية السيليلوز

يوضح الجدول (2) كمية السيليلوز المنتجة بأستخدام أوساط الانتـــاج الاربعـــة والتي شملـت HS– medium والمولاس غيـــرالمعامـــــل والمولاس المعامل بالحامض والحرارة والمولاس المعامل بالمستخلص الخـام لانزيم الانفرتيز اذ بلغت 1.52، 2.2 ،6.82 و 8.5 غم /لتر في نهاية مدة الحضن وعلى التوالي. يلاحظ من الجـدول ايضاً تفوق وسط المولاس بجميع اشكاله على وسط المقارنة HS– medium اذ بلغت الزيادة في الانتاجية 7. 144 % ، 668.5%، 833% على التوالي على أعتبار ان معاملة المقارنة 100% . كما يلاحظ وجود فـرق كـبير في كميـــــــة السيليلوز ما بين المولاس المعامـــل وغير المعامل مع افضليـــــة المولاس المهـضوم بـالانزيم عـن المولاس المعامـــــل بالحامض والحرارة. وهذا يتيح فرصة أستخدام المولاس كوسط طبيعي رخـيص الـثمن لانتـاج السيليلوز بدل من أستخدام الاوساط الصناعية المكونة من مواد غالية الثمن مثل مستخلص الخميرة والببتون وغيرها من المواد الاخرى. وقد أشار Sherif وجماعته (12) الى ان وجود الكبريت في المولاس المعامل ونسبة البروتين العالية فيه والتي قد تصل الى 12.8% فضلاً عن النتروجين العضوي اذ يصل الى2.05 % ان هذه العوامـل باكملـها أدت الى زيادة كمية السيليلوز المنتج بأستخدم المولاس المعامل بالحامض والحرارة. كما أشار Prashant وجماعته (11) الى أن أستخدام المولاس المعامل بالحرارة والحامض اعطى اكبر كمية من السيليلوز تزيد بنسبة 76% عن الكمية الناتجة مـن أستخدام المولاس الخام غير المعامل. في حين أشار Houssni وجماعته (7) الى أن أستخدام المـولاس غـير المعامـل والمعامل بالحرارة والحامض اعطى كمية أكبر من السيليلوز مقارنة بالاوساط الصناعية والمولاس المعامل اعطى الكميـة الاكبر من السيليلوز والتي تزيد بمقدار 60% عن المولاس غير المعامل بأستخدام ***Gluconacetobacter* sub sp *xylinum* (ATCC10245)** . كما أشار Dudman (5) الى أن من المحتمل ان يكون الملح المتكـــون بعد الهضم من المعادلـــة بالقاعدة قد يؤثر على كميـــة السيليلوز المنتجـــة مما يرجح كفـــة أسـتخدام المـولاس المعامل بالانزيم.

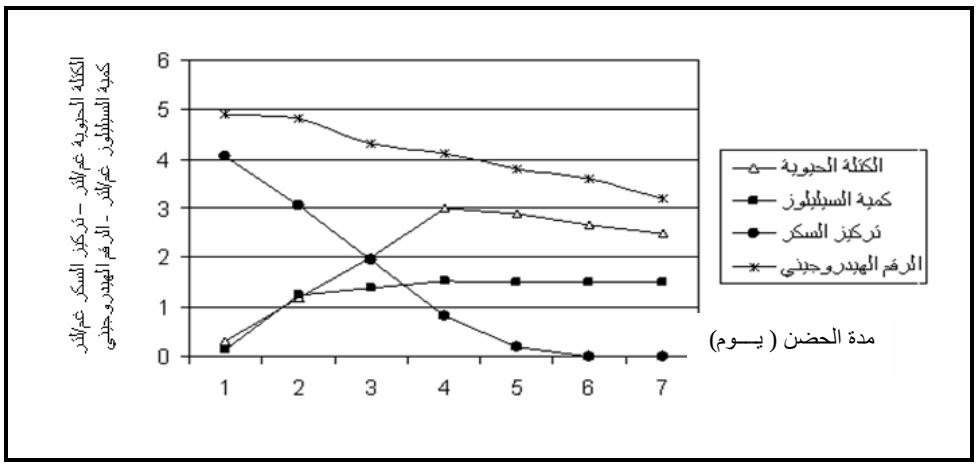
جدول 2: كمية السيليلوز المنتجة من بكتريا ***Acetobacter xylinum* AJ3** بأستخدام المـولاس غـير المعامـل والمولاس المعامل بالحامض و الحرارة والمعامل بالانزيم ووسط HS– medium.

وسط الانتاج	كمية السيليلوز المنتجة (غم/لتر)	مقدار الزيادة في الانتاجية (%)
HS– medium	1.52	100.0
المولاس غير المعامل	2.20	144.7
المولاس المعامل بالحامض والحرارة	6.82	668.5
المولاس المعامل بالمستخلص الخام لانزيم الانفرتيز	8.50	833.0

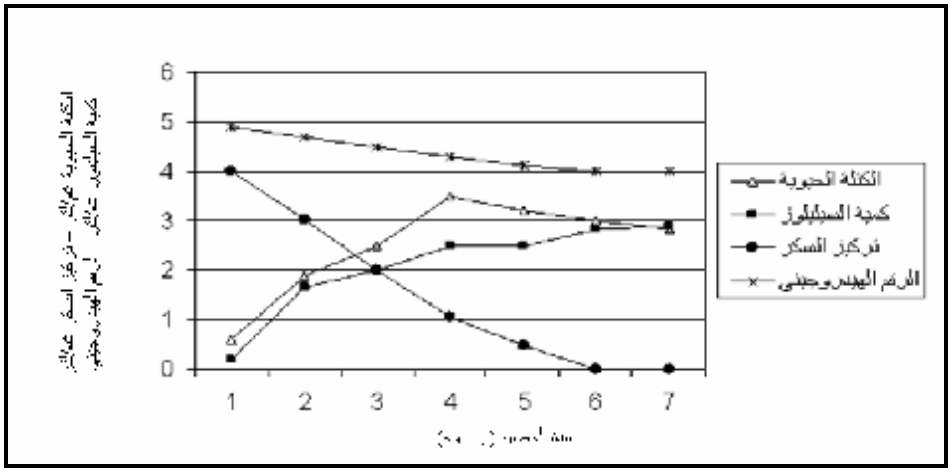
التغيرات الحاصلة خلال مدة الحضن

يلاحظ من الاشكال (1, 2, 3 و4) وجود تناسب طردي مابين الكتلة الحيوية وكمية السيليلوز المنتجـة، أذ يلاحظ ان أعلى كتلة حيوية تم الحصول عليه في اليوم الخامس مـــن الحضن في درجـــــة حرارة 30 مْ لمـــدة 7 أيام في وسط المـــولاس المعامـــل بالانزيم، أذ بلغت الكتلـــة الحيوية5.2 غم / لتر، يليـه المـولاس المعامـل بالحامض والحرارة فالمولاس غير المعامل واخيرا وسط HS– medium، اذ بلغت أعلى قيمة للكتلة الحيوية فيهـا 4.9, 3.0 و 2.5 غم /لتر على التوالي. وقد أشار Joong (8) الى أن حصول زيادة واضحة في كمية السيليلوز المنتجة في المزرعـــة الساكنـــة بأسـتخدام وسـط BSH– medium وبكتـــــريا PJK *G-hansenii* بزيـــادة عدد الخلايا، وان أعلـــى وزن للسيليلوز تم الحصول عليه في اليوم الرابع من الحضن، أذ بلغت الكتلـة

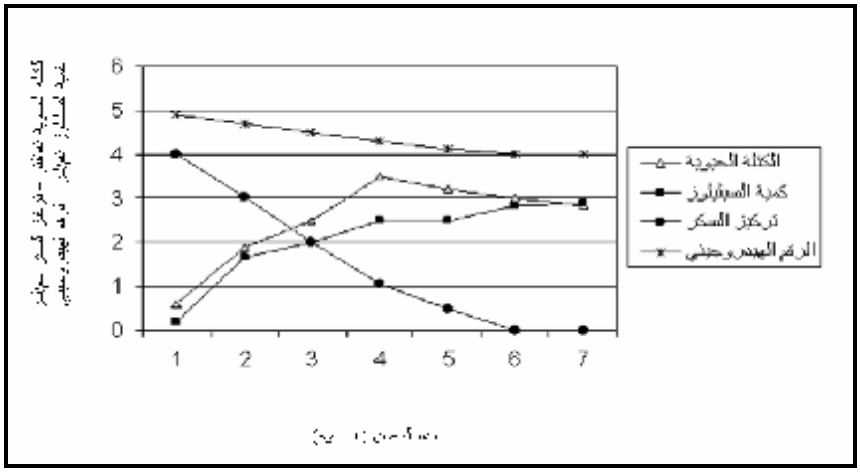
الحيوية 3 غم/ لتر على اساس الوزن الجاف.كما يلاحظحظ من الاشكال حصول انخفاضاً تدريجياً في كمية الـــسكريات الموجودة في الوسط لحين نفاذها تقريبا في أوساط الانتاج جميعها في اليومين الخامس والسادس من الحضن.كما يلاحظ ان الانخفاض في الرقم الهيدروجيني كان قليلا نسبيا ولم تشهد اي معاملة انخفاضـــا كـــبيرا في الحموضـــة. وقـــد أشـــار Dudman (5) الى أن مقدار الانخفاض في الرقم الهيدروجيني يعتمد على مقدار التركيز الاولي للسكر فيه.



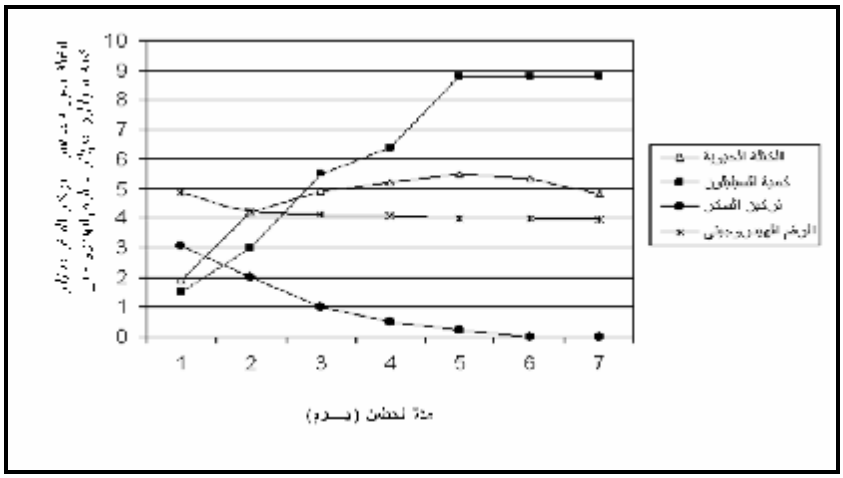
شكل 1: التغيرات الحاصلة خلال مدة الحضن في وسط HS-medium



شكل 2: التغيرات الحاصلة خلال مدة الحضن في وسط المولاس غير المعامل



شكل 3: التغيرات الحاصلة خلال مدة الحضن في وسط المولاس المعامل بالحامض والحرارة



شكل 4: التغيرات الحاصلة خلال مدة الحضن في وسط المولاس المعامل بالمستخلص الخام لانزيم الانفرتيز

تحسين كمية السيليلوز المنتجة من بكتريا *Acetobacter xylinum* AJ3 ببعض الاضافات لوسط الانتاج

يوضح جدول(3) تأثير أضافة الاكر وكاربوكسي مثيل سيليلوز(CMC) والجينات الصوديوم في كمية السيليلوز المنتجة من الاوساط الاربعة المذكورة سابقاً من بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **AJ3**أذ يلاحظ ان اضافة الاكرو**CM** بنسبة**0.2 %** ادت الى حصول زيادة في الانتاج وكانت اعلى هذه الزيادات بأضافة الاكر الى الاوساط الاربعة أذ بلغت كمية السيليلوز المنتجة (**3.80, 4.95, 9.00** و**10.55**) بعد ان كانت**1.58, 2.23, 6.80** و**8.80** غم/لتر قبل الاضافة وعلى التوالي. كما يلاحظ من الجدول (3) عدم تأثر كمية السيليلوز المنتجة في الاوساط الاربعة من قبل بكتريا ***Acetobacter xylinum*** **AJ3**بأضافة الجينات الصوديوم. وقدأشار **Prashant** وجماعته (**11**) الى ان اضافة الاكار الى وسط أنتاج السيليلوز بتركيز **0.1%** أدى الى حصول زيادة في كمية السيليلوز المنتجة من **6.3** غم/لتر الى **8.7** غم/لتر، في حين أشار **Bae** وجماعته (**2**) الى ان

معدل الزيادة الناتجة من اضافة الاكر بنسبة **0.4%** بلغت **12.8** غم/لتر بعد ان كانت **8** غم /لتر واوضح ان الوسط الحاوي على الاكار ترتفع لزوجته مما يحدث زيادة في اعداد الخلايا مقارنة بالوسط غير الحاوي على الاكار وقد فسر ذلك بان وجود الاكر يمنع من تكتل السيليلوز مما يعطي حرية اكثر للخلايا للنمو والتكاثر، كما وضح ان اضافة الاكار لاتؤثر على المسارات الايضية للبكتريا وانما للاكار تأثيرا فيزوكيميائي على الوسط المضاف له. كما أشار **Zhou** وجماعته (**17**)، **Chao** وجماعته (**3**) الى ان أضافة **CMC** الى وسط انتاج السيليلوز من بكتريا ***Acetobacter xylinum*** ادى الى حصول زيادة في الانتاج من **1.3** غم/لتر الى **8.2** غم/لتر في حين اضافة الجينات الصوديوم لم يحدث اي تغير في كمية السيليلوز المنتجة.

جدول**3**: تأثير أضافة بعض المواد على كمية السيليلوز المنتجة من بكتريا**AJ3** ***Acetobacter xylinum*** بأستخدام اوساط الانتاج

اوساط الانتاج	كمية السيليلوز المنتجة قبل اضافة المواد الى الاوساط (غم /لتر)	كمية السيليلوز المنتجة بعد اضافة الموادالى الاوساط بتركيز**0.2 %**(غم /لتر)		
		الاكار	**CMC**	الجينات الصوديوم
HS –medium	**1.58**	**3.80**	**3.00**	**1.53**
المولاس غير المعامل	**2.23**	**4.95**	**4.20**	**2.32**
المولاس المعامل بالحامض والحرارة	**6.80**	**9.00**	**8.20**	**6.77**
المولاس المعامل بالمستخلص الخام لانزيم الانفرتيز	**8.80**	**10.55**	**10.20**	**8.78**

المصادر

1- **AOAC. (2005). Official methods of analysis (AOAC) international,18th edition.**

2- **Bae, S.Y.; Sugano and M. Shoda (2004) . Improvement of bacterial cellulose production by addition of agar in fermenter. J. Bio Sci. Bioeng., 97: 33 -38 .**

3- **Chao, Y.; M. Mitrarai; Y. Sugano and M. Shoda (2001). Effect of addition of water – soluble polysaccharide on bacterial cellulose production in 50L air lift reacter . Biotechnol. Progr.,17: 781-785.**

4- **David, N., and A. Melind (2000). Production of bacterial cellulose from alternate Feed stocks, In: Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals, 22nd. Idaho.**

5- **Dudman, W.(1959). Cellulose production by *Acetobacter acetigenum* and other *Acetobacter* spp. J. Gen. Microbial., 21: 312 -326.**

6- **Freeman, K. (1995). Industrial pollution prevention Handbook. McGraw-Hill, Inc.**

7- **Houssni, E.; A. El- Diwany ; A. Basta ; N. Alwa and D. El- Ghwas (2008). Production and characterization of economical bacterial cellulose. Economical Bacterial Cellulose Bioresources, 3(4): 1196 - 1217.**

8- Joong, K.; H. Park and J. Yong jung (2003). Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* PJK isolated from rotten apple. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 8: 83- 88.

9- Makoto, S. and S. Yasushi (2005). Recent advances in bacterial cellulose production. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 10: 1-8.

10- Panesar, P.; Y. Chavan ; M. Bera; O. Chand and H. Kumar (2009). Evaluation of *Acetobacter* strain for the production of microbial cellulose . Asian Journal Chemistry., 21(10) :99-102 .

11- Prashant,R.; B. Ishwar ; A. Shrikant and S. Rekha (2009). Microbial cellulose: Fermentative production and Applications. Food Technol. Biotechnol., 47 (2): 107 – 124 .

12- Sherif, M.; M. Taha and S. Kazuhiko (2006). Bacterial cellulose production from beet molasses. African J. of Biotechol. 5(17): 1519 – 1525.

13- Son, J.; M. Heo; Y. Kim and S. Lee (2001). Optimization of fermentation condition for the production of bacterial cellulose by anewly isolated *Acetobacter* sp. A9 in shaking cultures. Biotechnol. Appl. Biochem., 33: 1-5.

14- Wojciech, C.; K. Alina; B. Stanislaw and B. Malcolm (2006). Microbial Cellulose – The natural power to heal wounds. Biomaterials, 27(2): 145-152.

15- Yamanaka, S.; K. Watanabe; N. Kitamura; M. Lguchi ; S. Mitsuhashi ; Y. Nishi and M. Uryu (1989). The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose, J. Matre. Sci., 24: 3141-3145.

16- Yoshinga, F. ; N. Tonouch and K. Watanabe (1997). Research progress in production of bacterial cellulose by aeration and agitation culture and pplication as new industrial material .Biotech Biochem., 61: 219-224.

17- Zhou, L.; D. Sun ; L. Hu; Y. Li and J. Yang (2007).Effect of addition of sodium alginate on bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* .J. Microbial Biotechnol., 34: 483- 488 .

Iraqi J. Agric. Res. Vol.16 No.1 pp.138-146 July./2011

PRODUCTION OF CELLULOSE FROM MOLASSES BY *Acetobacter xylinum* AJ3 BACTERIA

E. I. Alshamary

ABSTRACT

Bacterial cellulose (BC) was produced from molasses using local isolated of *Acetobacter xylinum* AJ3. The yield of the Bacterial cellulose produced from molasses was higher than that using glucose as a sole carbon source in HS – medium . The yield of BC produced from molasses hydrolysate was higher than that of raw molasses, and the amount (BC) produced from molasses hydrolysate by crude invertase enzyme was higher than that using molasses hydrolysate by acid. The amount of BC was1.52, 2.20, 6.82 and 8.50 g\ l in HS – medium, raw molasses, molasses hydrolysate by acid, molasses hydrolysate by crude invertase enzyme, respectively and the biomass reached a maximum value of 3, 3.5,5.0 and 5.5 g\ l, respectively. Mean while, the yield of the cellulose was increased added with agar and carboxy methyl cellulose in 0.2% to the production medium.

College of Agric. - Baghdad Univ.- Baghdad, Iraq.