

سنتز سلولز میکروبی از سویه بومی و بررسی شبکه نانو الیافی به دست آمده از ساکاریدهای گوناگون

رامین خواجهوی*⁺، امین مفتاحی، ابراهیم جهانگیریان اصفهانی
تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، گروه مهندسی شیمی نساجی و علوم الیاف

مرتضی ستاری

تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه میکروبیولوژی

چکیده: محدود بودن منابع طبیعی به ویژه در مورد سلولز که از گیاهان به دست می‌آید، باعث شده است تا پژوهش‌های بسیاری در زمینه منبع مناسب برای این ماده مهم انجام شود. در این رابطه تولید سلولز از روش‌های گوناگونی مورد ارزیابی قرار گرفته است. یکی از مهمترین روش‌های تولید این پلیمر زیستی که در چند دهه اخیر رشد چشمگیری را داشته است، استفاده از برخی گونه‌های باکتریایی است. سلولز باکتریایی از منبع کربوهیدراتی ساکاریدی تولید می‌شود. در این پژوهش، در مرحله اول لایه‌هایی از نانو الیاف سلولز باکتریایی از سه منبع ساکاریدی متفاوت (گلوکز، ساکاروز و لاکتوز) در محیط کشت ایستا تولید شد، سپس با استفاده از روش‌های اندازه‌گیری رطوبت بازیافتی، طیف سنجی فرسرخ، پراش پرتو ایکس و میکروسکوپ الکترونی (SEM)، ساختار نانو الیاف فیبریلی سلولزهای باکتریایی تولیدی بررسی و با ساختار دولیف سلولزی (پنبه و ویسکوز) مقایسه شد. نتیجه‌ها نشان دادند که عرض نانو الیاف فیبریلی سلولزهای باکتریایی بدین روش کمتر از ۱۰۰ نانومتر و درصد بلوری لایه‌های تولیدی از هر سه منبع نسبت به سلولز طبیعی موجود در پنبه کمتر (۱۵-۱۰٪) و نسبت به سلولز بازیافتی موجود در ویسکوز بیشتر (۹-۱۳٪) است. ساختار بلوری تمام سلولزهای باکتریایی تولیدی از نوع I بود. لیکن مقدار سلولز I آلفای آنها متفاوت بود. میزان رطوبت بازیافتی سلولز باکتریایی نیز نسبت به سلولز طبیعی پنبه مقدار بیشتر (۵٪) و نسبت به سلولز بازیافتی ویسکوز مقدار کمتر (۳٪) بود.

واژه‌های کلیدی: سلولز باکتریایی / میکروبی، نانو الیاف، طیف سنجی مادون قرمز، پراش اشعه ایکس، میکروسکوپ الکترونی (SEM)، رطوبت بازیافتی.

KEY WORDS: Bacterial / microbial cellulose, Nano fibers, Fourier transform infrared spectroscopy, X-Ray diffraction, Scanning electron microscopy (SEM), Regian moisture.

مقدمه

سلولز یک پلی ساکارید ساخته شده از مونومرهای بتا گلوکز است. این پلیمر زیستی به عنوان یکی از پر مصرفترین مواد طبیعی، در زندگی روزمره بشر جایگاه ویژه ای را دارد [۴-۱]. در این میان گیاهان و درختان (پنبه دارای ۹۴٪ سلولز و چوب دارای ۵۰٪ سلولز) نقش بیشتر را در زمینه تولید آن به عهده داشته و تولید انواع فراورده‌ها از سلولز طبیعی و بازیافتی به وسیله این منابع انجام می‌شود [۵].

با توجه به این که تولید انواع فراورده‌های سلولزی به ویژه الیاف سلولزی بازیافتی و طبیعی از مرتع‌ها و جنگل‌های گوناگون صورت می‌گیرد و برای به دست آوردن فراورده‌های با کیفیت مناسب، باید از روش‌های گوناگون خالص‌سازی شیمیایی سلولز بهره برد، در سال‌های اخیر آسیب زیادی به طبیعت وارد شده است [۶]. از سوی دیگر رشد جمعیت و تمایل بشر به استفاده از الیاف طبیعی و یا بازیافتی به دست آمده از طبیعت، پژوهشگران را بر آن داشت تا به دنبال تأمین سلولز از منابع دیگری باشند [۷].

در این میان سلولز میکروبی یا باکتریایی یکی از مهمترین منابعی است که مورد توجه قرار گرفته است [۶] و در چند دهه ی اخیر به دلیل خلوص زیاد و ویژگی‌های فیزیکی بسیار مناسب‌تر از سلولز گیاهی، به عنوان یک ماده زیستی مناسب برای مصرف‌های گوناگون به کار رفته است و از آن در پهنه گسترده‌ای از صنایع گوناگون مانند صنایع کاغذ، الکترونیکی، آکوستیکی، غذایی، منسوجات، لوازم آرایشی، نظامی، زیست پزشکی، مهندسی بافت و پزشکی استفاده می‌شود [۱۰-۴].

سلولز میکروبی در واقع یک هیدروژل طبیعی است که ویژگی‌های آن بهتر از هیدروژل‌های مصنوعی می‌باشد. روش تولید آسان، قابلیت جذب زیاد مایعات، استحکام بالا در حالت مرطوب، خلوص شیمیایی بالا، قابلیت استریل شدن بدون تغییر در ساختمان شیمیایی، مقاومت بالا در برابر خوردنده‌های شیمیایی و قابلیت تولید در مقیاس‌های تجاری سلولز میکروبی را به عنوان یک ماده ممتاز در بین پلیمرهای زیستی مطرح نموده است [۱۲-۹].

سلولز باکتریایی از منابع گوناگون ساکاریدی (هیدروکربن) و باکتریایی تولید می‌شود و مهمترین باکتری تولید کننده سلولز میکروبی استوباکتر گزیلینیوم است [۹]. استوباکتر گزیلینیوم یک باکتری گرم منفی و هوازی میله‌ای شکل است که می‌تواند ۱۰۸ مولکول گلوکز را به سلولز تبدیل نماید [۱۳، ۸، ۴].

در طی فرایند سنتز زیستی، ترکیب‌های گوناگون کربنی مغذی

موجود در محیط کشت توسط باکتری‌ها مصرف می‌شوند، سپس مواد مصرف شده به زنجیره‌های پلیمر خطی β -گلوکز تبدیل می‌شوند و سرانجام از میان سوراخ‌های روی غشای بیرونی سلول باکتری به بیرون اکستروود (ترشح) می‌شوند. در این فرایند، سلول‌های باکتری مانند یک نانو اسپینرت عمل نموده و فیبریل‌های بسیار ظریفی را تولید می‌کنند. استوباکتر گزیلینیوم، سلولز را بین غشای بیرونی و غشای سیتوپلاسمی خود به وجود می‌آورد. این عمل به وسیله یک کمپلکس تولید کننده سلولز انجام می‌گیرد. کمپلکس‌های سنتز کننده سلولز با منفذهای موجود در سطح باکتری در ارتباط هستند و در طی فرایندی نانوفیبریل‌های سلولزی را از حفره‌های روی غشای بیرونی خود به خارج از سلول ترشح می‌کنند [۱۴].

سلولز باکتریایی اولین بار توسط *Brown* در سال ۱۸۸۶ میلادی در طی فرایند تولید سرکه، در سطح ظرف تخمیر سرکه به صورت یک ماده ژلاتینی به دست آمد [۱۵]. *Brown* و همکاران سلولز باکتریایی از چهار نوع باکتری استوباکتر، ریزوبیوم، اگروباکتریوم و آلکالیجنز در محیط کشت ایستا تولید نمودند [۱۶]. *Chun Yu* و همکارش توانستند سلولز باکتریایی با ساختار بلوری سلولز نوع II را از باکتری استوباکتر در حضور ۶ و ۲ دی کلرو بنزو نیتریل در محیط کشت ایستا به وجود بیاورند [۱۷]. *Klemm* و همکاران رگ مصنوعی از سلولز باکتریایی در محیط کشت ایستا از باکتری استوباکتر گزیلینیوم تولید نموده و با موفقیت بر روی موش تست نمودند [۱۴]. *Keshk* و همکارش سلولز باکتریایی در محیط کشت ایستا از باکتری استوباکتر گزیلینیوم و چهار منبع کربن (گلوکز، فروکتوز، گلیسرول و اینوسیتول) کشت نموده و به وسیله طیف پراش اشعه ایکس شاخص بلوری سلولزها را به دست آوردند [۱۸]. *Surma* و همکاران برای تولید کاغذ، ۶ نوع سلولز باکتریایی از باکتری استوباکتر در حالت ایستا از ۶ نوع منبع کربن (گلوکز، آرابینوز، مانوز، گالاکتوز، گیلوز و مانیتول) کشت نمودند و بیشترین سلولز تولید شده مربوط به گلوکز بود و با استفاده از طیف سنجی مادون قرمز بازه‌ی گروه‌های هیدروکسیل سلولزها را برای پیوند هیدروژنی با مواد کاغذ به دست آوردند [۱۹]. *Yan* و همکاران سلولز تولید شده از استوباکتر را با نانولوله چند لایه کربن ترکیب نموده و این ترکیب جدید را با سلولز باکتریایی از روش طیف سنجی فرسرخ و پراش اشعه ایکس مقایسه نمودند. در این مقایسه ساختار بلوری سلولز نوع I α به نوع β تبدیل شده و همچنین شاخص بلوری و اندازه بلورها تغییر کرده است [۲۰]. *Phisalaphong* و همکارش سلولز باکتریایی را با چیتوزان ترکیب نموده و طیف‌های پراش اشعه ایکس

چین و چای ساخت شرکت طلا ایران استفاده شد. برای مقایسه با سلولزهای طبیعی از نخ ویسکوز تهیه شده از کارخانه نخ البرز و الیاف پنبه ساخت شرکت کاوه استفاده شده است.

روش تولید نانو الیاف سلولز باکتریایی

یکی از روش‌های کشت سلولز باکتریایی، کشت ایستا است. ابتدا به اندازه ۵۰ گرم از ساکارید (گلوکز، ساکاروز و لاکتوز) را در ظروف ریخته و با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر رسانده و با هم‌زدن پی در پی سعی در حل نمودن کامل ساکارید شد. در مرحله بعد ۵۰ میلی‌لیتر از چای مانده به محیط کشت اضافه شد. شایان گفتن است که برای تولید چای مانده یک تی‌بگ چای گلستان در یک لیوان آب جوش (۲۰۰ میلی‌لیتر) قرار داده شد و بعد از ۴ ساعت تی‌بگ خارج شد و ۵۰ میلی‌لیتر از این چای به محیط کشت اضافه شد. سرانجام درب ظروف بسته شد و در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد و بعد از اتمام کار اتوکلاو و خنک شدن ظروف، مقدار ۱۲ میلی‌لیتر از باکتری *استوباکتر بومی ایران* به آن اضافه شده و درب ظروف به حالت نیمه باز قرار داده شد تا اکسیژن کافی برای باکتری تأمین شود. بعد از گذشت یک هفته، لایه‌ی سلولز باکتریایی بر روی سطح محیط کشت رشد کرد. بعد از جمع‌آوری سلولز باکتریایی برای کشتن باکتری از سود سوز آور ۰/۸ نرمال استفاده شد. در این روش سلولز باکتریایی به مدت ۹۰ دقیقه در دمای جوش در سود قرار گرفت. بعد از گذشت زمان، سلولزها را با آب شستشو داده تا عمل خنثی‌سازی انجام گیرد. برای خشک نمودن سلولزها، نمونه‌ها بین دو پارچه قرار داده تا به طور کامل آب موجود در داخل نمونه‌ها خارج شود و نمونه خشک به دست آید [۱۲، ۹].

طیف سنجی فرو سرخ

برای تعیین گروه‌ها و پیوندهای شیمیایی خاص و برای به‌دست آوردن شاخص بلوری و نوع بلور نمونه‌های سلولزی از طیف سنجی فرو سرخ استفاده شد. برای این منظور نمونه‌ها با پودر پتاسیم برمید مخلوط شده و در دستگاه Thermo Nicolet مدل Nexus670FTIR ساخت آمریکا قرار دادند که طیف‌های فرو سرخ در رنج طیفی بین $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ با دقت 4 cm^{-1} به‌دست آمد [۱۵، ۱۰، ۸].

برای تعیین شاخص بلوری از دو نسبت Nelson و نسبت شدت جذب مناطق بلوری به مناطق آمورف و برای تعیین نوع ساختار بلوری

و فروسرخ این ترکیب و سلولز را به دست آورده و از این طیف‌ها ساختار بلوری سلولز نوع I را در نمونه‌ها به‌دست آوردند [۲۱]. *Chen* و همکاران ترکیب جدیدی از سلولز باکتریایی و کربوکسی متیل تولید نموده و طیف فروسرخ و تصاویر میکروسکوپ الکترونی SEM این ترکیب را با سلولز باکتریایی مقایسه نمودند. در طیف فروسرخ علاوه بر پیک‌های سلولز باکتریایی دو پیک در ناحیه‌های 1650 و 1550 cm^{-1} مربوط به کربوکسی متیل به‌دست آمد و اندازه عرض نانو الیاف فیبریلی نمونه سلولز باکتریایی برابر ۸۰ نانومتر و ترکیب جدید بین ۱۰۰ تا ۱۲۰ نانومتر به دست آمد [۲۲]. *Kesh* سلولز باکتریایی را با دو نوع سلولز طبیعی مقایسه نمود و از روش طیف‌سنجی فروسرخ شاخص بلوری این سه نوع سلولز را به‌دست آورد. که شاخص بلوری سلولز باکتریایی بزرگتر از دو نمونه دیگر بود [۲۳]. *Goelzer* و همکاران از گلوکز و سبوس برنج سلولز باکتریایی تولید نمودند. این سلولزها را از باکتری *استوباکتر* در محیط کشت ایستا و محرک به دست آمد. اندازه‌ی عرض نانو الیاف فیبریلی سلولزهای تولید شده کمتر از ۱۰۰ نانومتر به دست آمد. از روش طیف سنجی فروسرخ و پراش اشعه ایکس نوع بلور سلولزهای تولید شده محیط کشت ایستایی سلولز نوع I و سلولزهای تولید شده در محیط کشت متحرک سلولز نوع II است [۲۴].

هدف از انجام این پژوهش، در مرحله اول، تولید لایه‌ای از نانو الیاف سلولز باکتریایی با استفاده از سویه بومی بوده و در مرحله بعد بررسی ساختار سلولزهای باکتریایی تولید شده از سه منبع ساکاریدی متفاوت (گلوکز، لاکتوز و ساکاروز) صورت پذیرفت. از طرف دیگر با توجه به روش تولید الیاف ویسکوز ریون که از لیتتر پنبه و چوب درختان است در این مطالعه سعی شد در مرحله دوم مقایسه‌ای بین ساختار نانو الیاف سلولز باکتریایی تولید شده از سویه بومی با دو لیف متداول پنبه و ویسکوز ریون معمولی انجام پذیرد و پس از مطالعه ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آنها، امکان جایگزینی سلولز باکتریایی به عنوان یک منبع سلولزی منحصر به فرد برای تولید الیاف سلولزی بررسی شد.

بخش تجربی

مواد و روش کار

برای تولید سلولز میکروبی، سویه‌ی بومی باکتری *استوباکتر گریلینیوم* تولید شده از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه تربیت مدرس، لاکتوز ساخت شرکت OG اوکراین، ساکاروز ساخت شرکت مروارید غرب ایران، گلوکز و سود ساخت شرکت Tianjin

جدول ۱- وزن به دست آمده سلولزهای باکتریایی دایره ای بعد از گذشت هفت روز.

وزن خشک (گرم)	وزن تر (گرم)	سلولز باکتریایی بر حسب نوع ساکارید
۰٫۱۰۵	۱۶٫۰۹۱	ساکاروز
۰٫۱۱۹	۱۹٫۰۹۲	لاکتوز
۰٫۱۷۵	۲۳٫۸۳۵	گلوکز

عرض نانو الیاف فیبریلی نمونه‌های سلولزی از تصویرهای SEM استفاده شد. برای تهیه تصویرهای میکروسکوپی ابتدا سطح نمونه‌ها با پودر طلا پوشانده و سپس تصاویر SEM با بزرگ‌نمایی ۵۰۰ و ۷۵۰۰ و برای سلولز باکتریایی و با بزرگ‌نمایی ۲۵۰ و ۵۰۰ برای الیاف پنبه و ویسکوز در ولتاژ ۱۶ کیلوولت گرفته شد [۲۶، ۲۴، ۲۱].

درصد رطوبت بازیافتی

برای انجام این آزمایش از آون ساخت شرکت شفا بخش نوین ایران و برای تعیین درصد رطوبت بازیافتی از معادله (۴) استفاده شد. برای این منظور مقدار معینی از نمونه‌ها در داخل آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد قرار داده شده و بعد از مدت ۱۵ دقیقه توزین شد. این کار آن قدر ادامه یافت تا ۳ بار پشت سرهم مقدار وزن‌ها یکی شود [۹].

$$R\% = W/D \times 100 = (m_1 - m_2) / m_2 \times 100 \quad (4)$$

در معادله (۴) W، وزن آب موجود در نمونه و D، وزن خشک نمونه، m_1 ، وزن اولیه نمونه و m_2 ، وزن خشک نمونه است.

نتیجه‌ها و بحث

بررسی وزن سلولز باکتریایی تولید شده از منابع گوناگون ساکارید

در جدول ۱ وزن تر و خشک غشاهای سلولز دایره‌ای (قطر دایره ۷۵ میلی متر) بعد از گذشت یک هفته آورده شده است. بیشترین وزن خشک و تر به دست آمده از سلولز باکتریایی دایره‌ای شکل مربوط به ساکارید گلوکز است. در شکل ۱ تصویرهایی از سلولز باکتریایی تر، سلولز باکتریایی بعد از کشته شدن باکتری و سلولز باکتریایی خشک آورده شده است.

تجزیه طیف سنجی فرو سرخ

در شکل ۲ طیف‌های فرو سرخ نمونه‌های سلولزی آورده شده است. با استفاده از این طیف‌ها گروه‌های شیمیایی و

از جابه جایی پیک‌ها، گروه‌ها و پیوندهای شیمیایی خاص استفاده شده است [۳۱-۲۵].

برای تعیین کسر حجمی بلور نوع I_α از معادله (۱) استفاده شد [۲۰].

$$f_{\alpha}^{IR} = [AV50 / (AV50 + kAV10)] \times 100 \quad (1)$$

در این معادله A750، شدت پیک مادون قرمز مربوط به بلور نوع I_α و A710، شدت پیک مادون قرمز مربوط به بلور نوع I_β و K ضریب ثابت برابر ۰٫۱۶ است.

پراش اشعه ایکس

برای تعیین نوع بلور، اندازه بلور و درصد بلوری از پراش اشعه ایکس استفاده شد. برای این منظور نمونه‌های سلولزی در قالب‌های قرصی شکل دستگاه فیلیپس مدل X Perd mpd ساخت هلند قرار داده شده و ولتاژ دستگاه برابر ۴۰ کیلو ولت و مقدار جریان برابر ۴۰ میلی آمپر و طول موج دستگاه $A^\circ 1.54058$ انتخاب شد. گستره‌ی اندازه‌گیری 2θ در بازه‌ی ۵ تا ۳۰ و نرخ اندازه‌گیری برابر ۱ درجه بر دقیقه تنظیم شد [۲۸، ۲۷، ۲۴، ۱۹، ۱۸].

شاخص بلوری با روش Segal (معادله ۲) تعیین شد [۲۵، ۲۱].

$$CI = (I_r - I_{am}) / I_r \quad (2)$$

در معادله ۲ I_r بیشترین شدت مربوط به نواحی بلوری و I_{am} شدت نواحی آمورف (برای سلولز نوع I در ناحیه $18=2\theta$ و برای سلولز نوع II در ناحیه $16=2\theta$) طیف‌های پراش اشعه X است. اندازه بلورها از معادله شرر (معادله ۳)) به دست آمد [۲۵].

$$D = K\lambda / BCos\theta \quad (3)$$

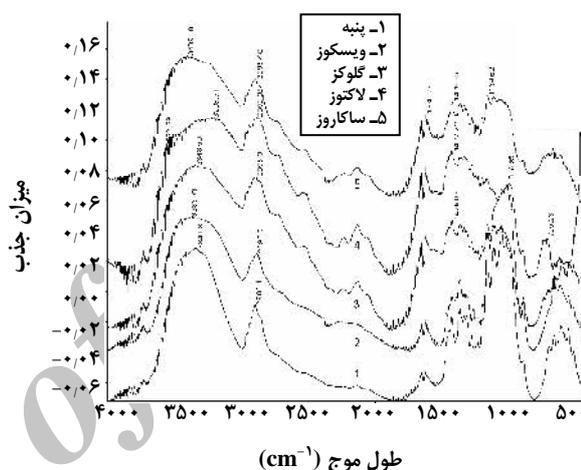
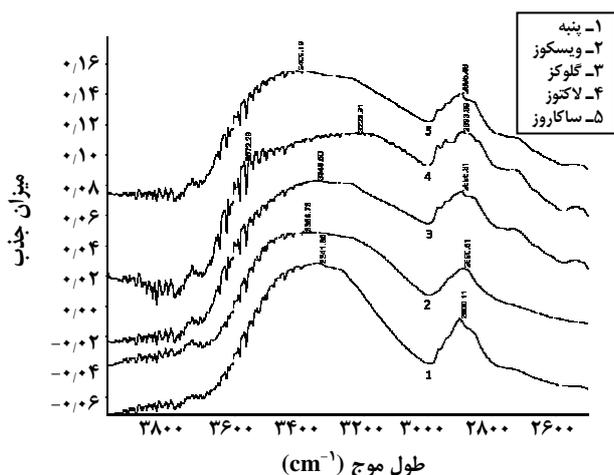
در این معادله D اندازه بلور بر حسب آنگستروم، K ضریب شرر برابر ۰٫۹۴ و B پهنای بیشینه نصف پیک‌های زاویه‌های براگ است. برای تعیین میزان درصد بلوری از نسبت مساحت سطح زیر پیک‌ها به مساحت سطح کل طیف پراش اشعه ایکس نمونه‌های سلولزی استفاده شد [۲۵].

تصویرهای میکروسکوپ الکترونی SEM

میکروسکوپ الکترونی مورد استفاده در این پژوهش حاضر از نوع SEM و مدل XL30 ساخت شرکت فیلیپس از کشور هلند بود و همچنین دستگاه لایه نشانی طلایی مورد استفاده در این پژوهش ساخت شرکت Bal-Tec از کشور سوئیس بود. برای به دست آوردن



شکل ۱- شکل سلولز باکتریایی دایره ای شکل ، (الف) سلولز تر ، (ب) سلولز بعد از کشته شدن باکتری (ج) سلولز خشک.



شکل ۲- ناحیه $4000-2500 \text{ cm}^{-1}$ نمونه‌های سلولزی شامل پنبه، ویسکوز و سلولز میکروبی تولید شده از سه محیط کشت حاوی گلوکز، لاکتوز و ساکاروز.

شکل ۳- طیف‌های فرو سرخ لیف‌های پنبه، ویسکوز و سلولز میکروبی تولید شده از سه محیط کشت حاوی گلوکز، لاکتوز و ساکاروز.

سلولز باکتریایی تولید شده از ساکاروز پیک پیوند هیدروژنی در بازه‌ی 3410 cm^{-1} قرار دارد و این پیک با پژوهش‌های *Oh* و همکاران تناقض دارد. به خاطر همین برای تشخیص نوع ساختار بلوری نمونه‌های سلولزی از روش طیف‌های مادون قرمز روش‌های گوناگونی در این پژوهش به کار برده شد.

یکی از این روش‌ها، پیک موجود در ناحیه 2900 cm^{-1} مربوط به گروه‌های CH است. این پیک بر اساس پژوهش‌های *Oh* و همکاران برای نمونه‌های دارای سلولز نوع II به سمت مقدارهای پایین‌تر منتقل شده است.

در شکل ۳ ناحیه $4000-2500 \text{ cm}^{-1}$ نشان داده شده است.

در جدول ۲ پیک‌های نمونه‌ها سلولزی آورده شده است.

یکی دیگر از روش‌های تعیین ساختار بلوری، تعیین شدت پیوندهای هیدروژنی از نسبت نرخ جذب ($A(2995-4000)$ به $A(1337)$ (بازه‌ی 1337 cm^{-1} مربوط به C-OH است) و یا نرخ جذب ($A(2995-4000)$ به $A(993)$ (بازه‌ی 993 cm^{-1} مربوط به C-O است) استفاده شد.

پیوندهای شیمیایی خاص، شاخص بلوری و نوع بلور نمونه‌های سلولزی به دست آمد.

برخی از تغییرهای شیمیایی و فیزیکی سلولز به پیوندهای هیدروژنی که در اطراف ناحیه $4000-2995 \text{ cm}^{-1}$ قرار دارند، وابسته است. طیف فرو سرخ، پیک‌های گوناگونی از پیوندهای هیدروژنی در این ناحیه داده است.

Oh و همکاران پیک‌های فرو سرخ نمونه‌های سلولزی دارای ساختار بلوری نوع I و نوع II را با هم مقایسه نمودند. در این پژوهش‌ها وقتی پیک پیوندهای هیدروژنی در بازه‌ی 3370 cm^{-1} به بالا باشد دارای سلولز نوع II و در بازه‌ی 3340 cm^{-1} به پایین باشد دارای سلولز نوع I است [۲۵، ۳۱].

با توجه به نتیجه‌های به دست آمده از پراش اشعه ایکس و مشخص شدن ساختار بلوری نوع I برای سلولزهای باکتریایی باید پیک پیوندهای هیدروژنی نمونه‌ها بر اساس پژوهش‌های *Oh* و همکاران از قاعده گفته شده در بالا پیروی کند. ولی در مورد

جدول ۲- پیک‌های نمونه‌ها سلولزی در ناحیه‌های گوناگون.

CO (cm^{-1})	C-OH (cm^{-1})	CH (cm^{-1})	OH (cm^{-1})	گروه شیمیایی نمونه سلولزی
۹۸۵/۴۸	۱۳۳۵/۱۷	۲۹۰۰/۱۱	۳۳۴۱/۳۵	پنبه
۹۹۵/۰۷	۱۳۳۶/۲۱	۲۸۹۰/۵۱	۳۳۸۶/۷۳	ویسکوز
۱۰۰۳/۵۴	۱۳۳۵/۹۰	۲۸۹۳/۳۹	۳۲۲۳/۹۱	سلولز باکتریایی (لاکتوز)
۹۹۷/۶۰	۱۳۳۵/۱۸	۲۸۹۵/۴۸	۳۴۰۹/۱۸	سلولز باکتریایی (ساکاروز)
۱۰۱۶/۵۱	۱۳۳۵/۳۶	۲۸۹۵/۳۱	۳۳۴۸/۵۰	سلولز باکتریایی (گلوکز)

جدول ۳- شدت پیوندهای هیدروژنی با استفاده از طیف سنجی فرو سرخ.

نمونه	(۲۹۹۵-۴۰۰۰) A / ۱۳۳۷ A	(۲۹۹۵-۴۰۰۰) A / ۹۹۳ A
پنبه	۲/۹۰	۳/۳
ویسکوز	۲/۲۴	۶/۱
سلولز باکتریایی (لاکتوز)	۳/۰۰	۳/۰
سلولز باکتریایی (ساکاروز)	۳/۰۰	۳/۰
سلولز باکتریایی (گلوکز)	۳/۱۰	۳/۲

جدول ۴- شدت جذب در دو ناحیه کریستالی و آمورف و مقدار شاخص کریستالی.

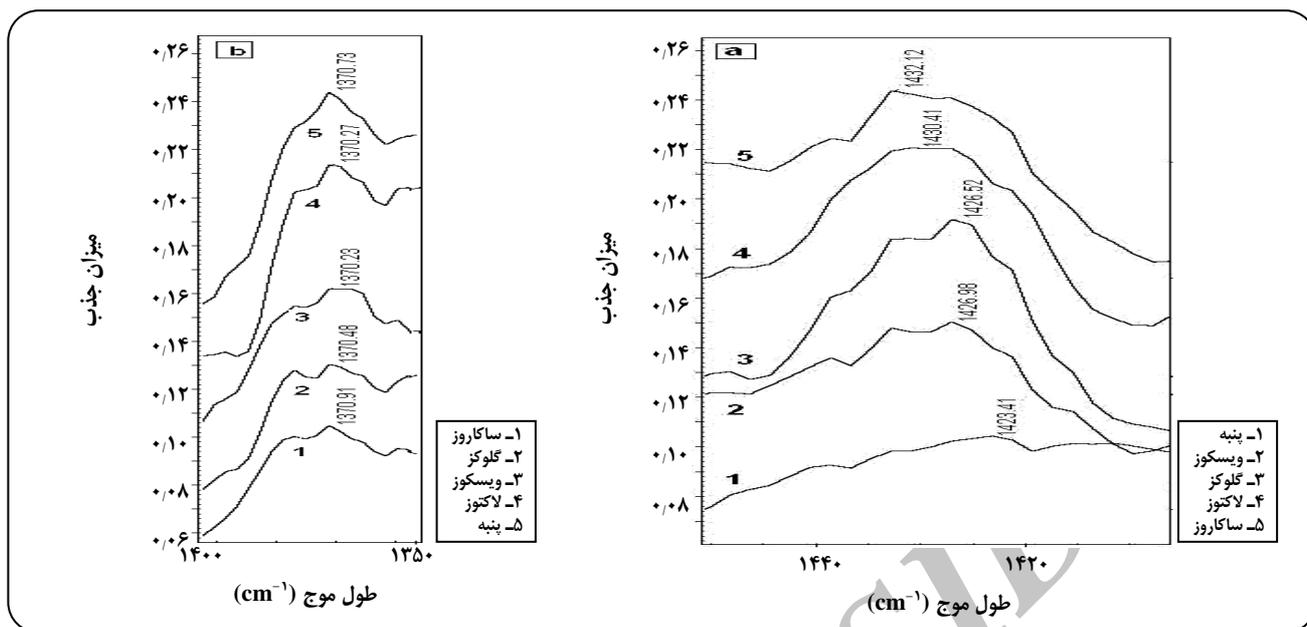
نمونه	۱۴۳۰ A	۹۰۰ A	۹۰۰ A / ۱۴۳۰ A
پنبه	۰/۱۲۲	۰/۰۵۱	۲/۳۹
ویسکوز	۰/۱۳۳	۰/۱۵۷	۰/۸۵
سلولز باکتریایی (لاکتوز)	۰/۰۰۶	۰/۰۰۴	۱/۵۰
سلولز باکتریایی (ساکاروز)	۰/۰۸۴	۰/۰۴۵	۱/۸۷
سلولز باکتریایی (گلوکز)	۰/۰۶۵	۰/۰۴۴	۱/۴۸

سلولزی است. از نسبت جذب در 1430 cm^{-1} به جذب در 900 cm^{-1} مقدار شاخص بلوری به‌دست آمد. در شکل ۴ ناحیه‌های بلوری و آمورف نمونه‌های سلولزی نشان داده شده است و در جدول ۴ شدت جذب در دو ناحیه بلوری و آمورف و مقدار شاخص بلوری آمده است. در مورد پیک بلور (1430 cm^{-1}) اگر پیک رو به کاهش و به سمت 1420 cm^{-1} برود، نشان دهنده وجود ساختار بلوری نوع II است و در مورد پیک آمورف (900 cm^{-1}) رو به کاهش و به سمت 895 cm^{-1} برود، نشان دهنده وجود ساختار بلوری نوع II است. پس در نتیجه شاخص بلوری این روش برای ساختار بلوری سلولز نوع I بیشتر از نوع II است.

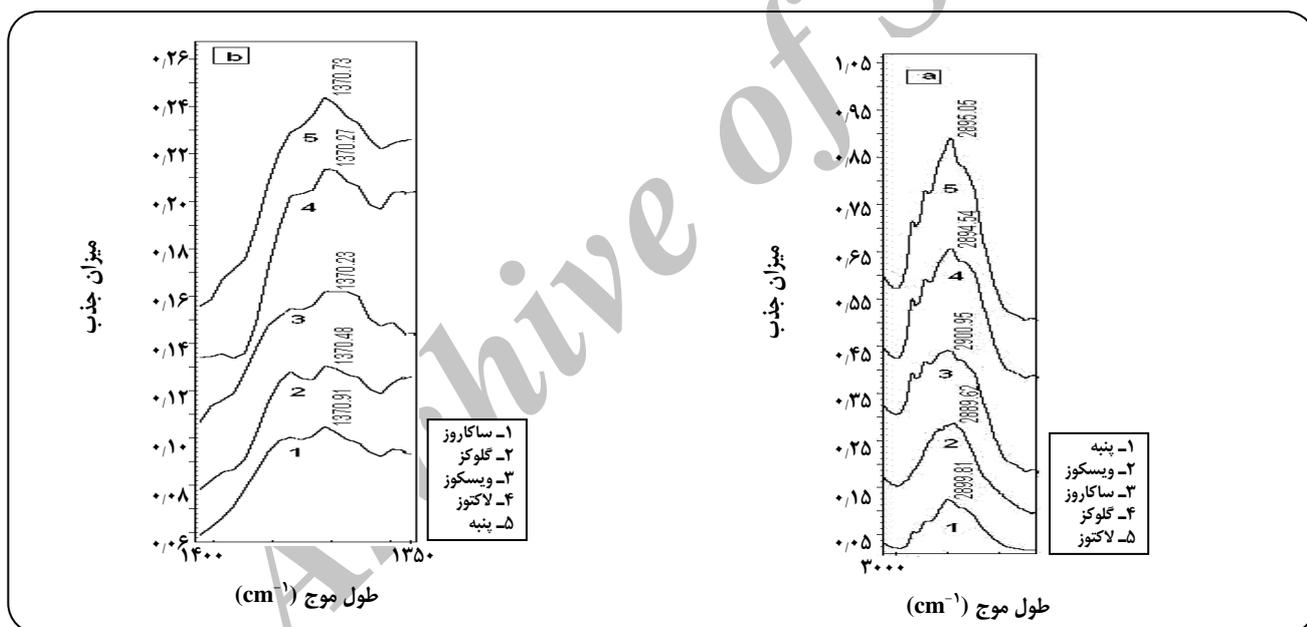
Oh و همکاران شاخص بلوری را برای نمونه‌های سلولز معمولی و سلولز مرسریزه شده از نسبت A_{1430}/A_{900} به‌دست آوردند.

در روش اول افزایش مقدار جذب نشان‌دهنده سلولز نوع II و در روش دوم افزایش مقدار جذب نشان دهنده سلولز نوع I است. در جدول ۳ شدت پیوندهای هیدروژنی آورده شده است. با توجه به مقدارهای به‌دست آمده از شدت پیوندهای هیدروژنی تمام سلولزهای باکتریایی دارای ساختار بلوری نوع I می‌باشند و این نتیجه‌ها با نتیجه‌های به‌دست آمده از طیف‌های پراش اشعه ایکس و با پژوهش‌های *Oh* و همکاران برابر است [۳۱، ۲۵].

برای تشخیص ساختار بلوری سلولز از روش مادون قرمز می‌توان از روش تعیین شاخص بلوری، نوع بلور را مشخص نمود. در طیف‌های مادون قرمز دو پیک در حدود ناحیه‌های 1430 cm^{-1} و 900 cm^{-1} به‌دست آمده است. پیک 1430 cm^{-1} مربوط به ناحیه‌های بلوری و پیک 900 cm^{-1} مربوط به ناحیه‌های آمورف نمونه‌های



شکل ۴- ناحیه کریستالی و آمورف نمونه‌های سلولزی، (a) ناحیه بلوری (b) ناحیه آمورف.



شکل ۵- ناحیه مربوط به پیک‌های روش Nelson، (a) پیک‌های گروه CH، (b) پیک‌های گروه CH₂.

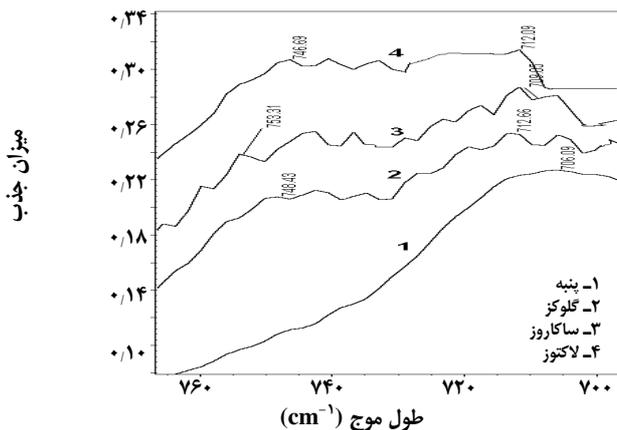
به جذب در ناحیه 2900 cm^{-1} (مربوط به CH) استفاده شد. شکل ۵ ناحیه پیک‌های موجود در طیف‌های مادون قرمز مربوط به گروه‌های CH و CH_۲ و در جدول ۵ شدت پیک‌ها و میزان شاخص بلوری روش Nelson نمونه‌های سلولزی آمده است. در مورد روش Nelson پیک CH_۲ به تقریب برای تمام نمونه‌ها ثابت است و پیک CH در بازه 2900 cm^{-1} برای نمونه‌ها دارای

که میزان شاخص بلوری سلولزهای معمولی نسبت به سلولزهای مرسریزه شده بالاتر بود. همچنین *Keshk* شاخص بلوری سلولز باکتریایی و سلولز باکتریایی اکسید شده از روش نسبت بالا برابر 2900 و 1725 محاسبه نمود [۲۶، ۳۱].

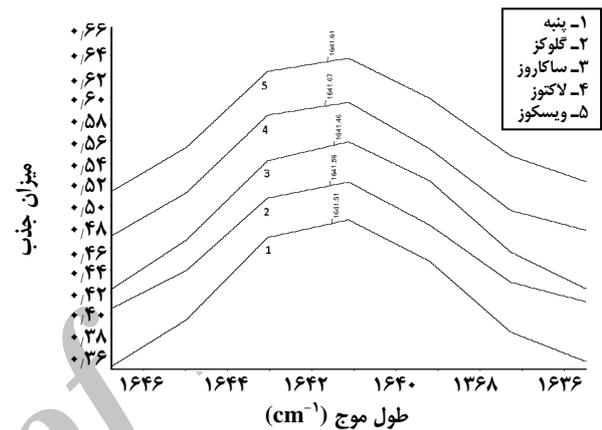
روش دیگر برای تعیین شاخص بلوری روش Nelson است. در این روش از نسبت جذب در ناحیه 1370 cm^{-1} (مربوط به CH_۲)

جدول ۵ - شدت پیکها و میزان شاخص بلوری روش Nelson.

نمونه	۲۹۰۰A	۱۳۷۰A	۲۹۰۰A / ۱۳۷۰A
پنبه	۰/۲۸۸	۰/۴۷	۰/۴۷
ویسکوز	۰/۱۷۶	۰/۵۸	۰/۵۸
سلولز باکتریایی (لاکتوز)	۰/۰۲۵	۰/۳۶	۰/۳۶
سلولز باکتریایی (ساکاروز)	۰/۲۰۷	۰/۳۲	۰/۳۲
سلولز باکتریایی (گلوکز)	۰/۲۱۹	۰/۳۱	۰/۳۱



شکل ۷ - پیکهای مربوط به ساختار بلوری نوع I.

شکل ۶ - پیک 1640 cm^{-1} نشان دهنده وجود آب در نمونه‌های سلولزی.

و پیک 750 cm^{-1} مربوط به ساختار I_{α} است. در شکل ۸ پیکهای مربوط به ساختار سلولز نوع I نشان داده شده است. با توجه به پیکهای به دست آمده تمام سلولزهای باکتریایی دارای دو شکل گوناگون سلولز نوع I می‌باشند. با استفاده از معادله (۱) میزان کسر حجمی ساختار بلور سلولز I_{α} برای سلولزهای باکتریایی بیشتر از ۸۰ درصد بوده است. در جدول ۷ کسر حجمی ساختار بلوری I_{α} آورده شده است. Y_{an} و همکاران کسر حجمی آلفای سلولز نوع I را برای سلولز باکتریایی برابر 76.3% و برابر ترکیب نانولوله و سلولز برابر 66.7% به دست آوردند [۳۲].

پراش اشعه ایکس

شکل ۸ طیف‌های پراش اشعه ایکس نمونه‌های سلولزی است. در این شکل پیکهای شاخصی در صفحات بلوری به دست آمده است که به وسیله این پیکها نوع بلور نمونه‌ها مشخص شده است. پیکهای شاخص برای شکل بلوری سلولز نوع I در نزدیکی ناحیه‌های 2θ : 14.7 ، 16.8 ، 22.7 و برای شکل بلوری سلولز

سلولز نوع II به سمت 2890 cm^{-1} منتقل شده است. در این روش شاخص بلوری برای سلولز نوع II بیشتر از نوع I به دست آمده است.

یکی دیگر از روش‌های تشخیص ساختار بلوری پیک وجود آب در طیف‌های مادون قرمز است. در ناحیه 1640 cm^{-1} (شکل ۷) پیکی به دست آمده که نشان دهنده وجود آب در نمونه‌های سلولزی است. مقدارهای شدت پیک وجود آب به شدت پیک 2900 cm^{-1} در جدول ۶ آورده شده است. هرچه این نسبت پایین باشد، نشان دهنده وجود ساختار بلوری سلولز نوع I است. ترتیب عددهای به دست آمده از نسبت پیک 1640 cm^{-1} به پیک 2900 cm^{-1} با نتیجه‌های رطوبت بازیافتی در جدول ۳ مطابقت دارد. یعنی هرچه این نسبت بیشتر باشد، نشانه بالاتر بودن درصد رطوبت بازیافتی است.

با توجه به اطلاعات طیف‌های فروسرخ، سلولزهای باکتریایی دارای ساختار بلوری نوع I هستند و برای تعیین ساختار I_{α} و I_{β} به وسیله طیف‌های فروسرخ از دو پیک موجود در ناحیه 710 و 750 cm^{-1} استفاده شده است. پیک 710 cm^{-1} مربوط به ساختار I_{β}

جدول ۸ - پیک‌های شاخص پراش اشعه ایکس و نوع بلور نمونه‌های سلولزی.

نوع بلور	پیک (۲θ) صفحه بلوری (۰۰۲)	پیک (۲θ) - صفحه بلوری (۱۰۱)	پیک (۲θ) صفحه بلوری (۱۰۱)	نمونه سلولزی
سلولز نوع I	۲۲,۶۵	۱۶,۳۳	۱۴,۸۰	پنبه
سلولز نوع II	۲۱,۹۴	۱۹,۹۱	۱۲,۰۱	ویسکوز
سلولز نوع I	۲۲,۳۸	۱۶,۵۵	۱۴,۶۹	سلولز باکتریایی (لاکتوز)
سلولز نوع I	۲۲,۶۶ - ۲۲,۳۱	۱۶,۹۲	۱۴,۴۵	سلولز باکتریایی (ساکاروز)
سلولز نوع I	۲۲,۴۸	۱۶,۴۶	۱۴,۴۵	سلولز باکتریایی (گلوکز)

جدول ۹ - درصد بلورینگی نمونه‌های سلولزی.

درصد بلوری کل	درصد بلوری پیک (۱۰۱)	درصد بلوری پیک (۱۰۱) -	درصد بلوری پیک (۰۰۲)	نمونه سلولزی
۶۷,۷۶	۱۱,۶۰	۸,۶۸	۴۷,۴۸	پنبه
۴۳,۹۲	۸,۹۳	۱۴,۹۸	۱۹,۲۹	ویسکوز
۵۲,۴۲	۹,۶۰	۷,۹۳	۳۴,۸۹	سلولز باکتریایی (ساکاروز)
۵۶,۳۷	۱۱,۰۴	۷,۵۸	۳۷,۷۴	سلولز باکتریایی (لاکتوز)
۵۷,۳۲	۱۱,۶۵	۹,۰۲	۳۶,۶۵	سلولز باکتریایی (گلوکز)

جدول ۱۰ - شاخص بلوری.

شاخص بلوری از رابطه Segal	نمونه سلولزی
۰,۹۸	پنبه
۰,۸۹	ویسکوز
۰,۹۵	سلولز باکتریایی (ساکاروز)
۰,۹۸	سلولز باکتریایی (لاکتوز)
۰,۹۴	سلولز باکتریایی (گلوکز)

جدول ۱۱ - اندازه بلورهای نمونه‌های سلولزی.

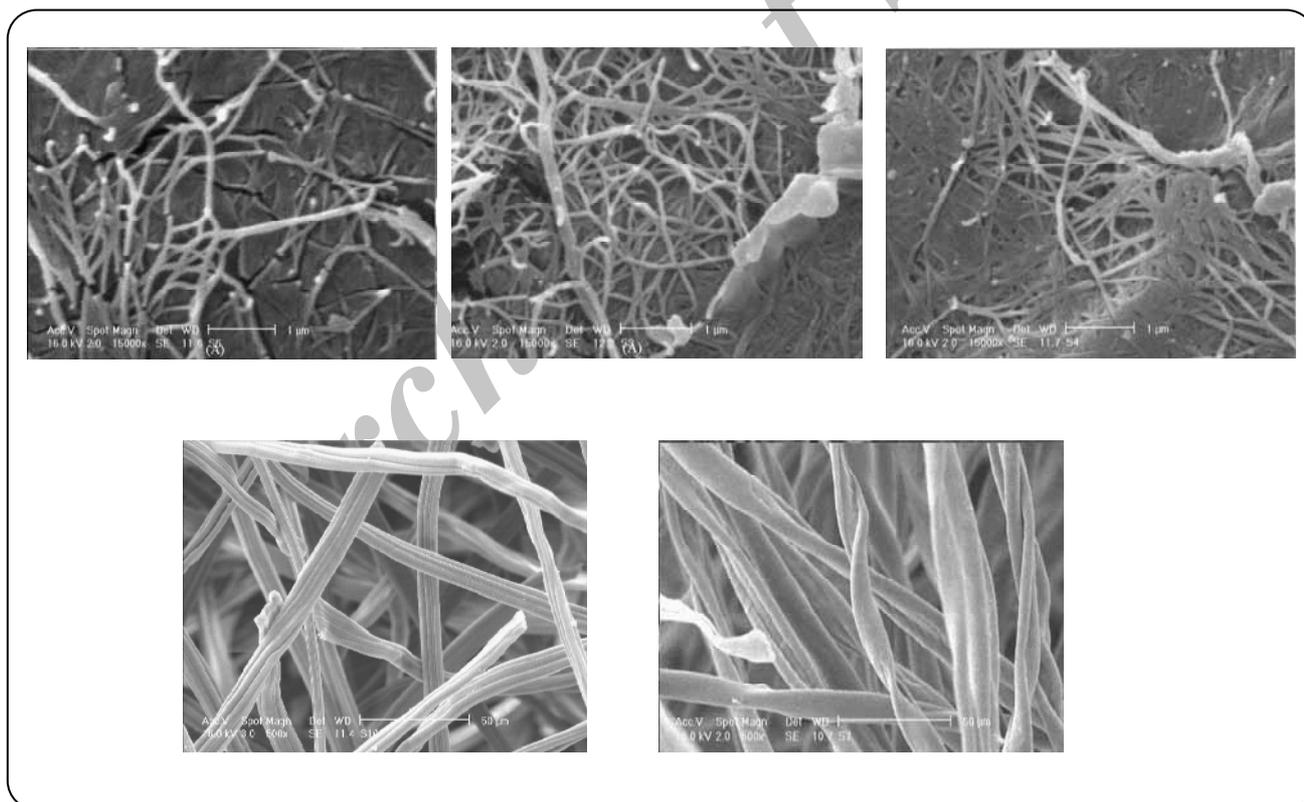
اندازه بلور صفحه (۰۰۲)	اندازه بلور صفحه (۱۰۱)	اندازه بلور صفحه (۱۰۱)	نمونه سلولزی
۶۲,۷	۸۴,۶	۶۵,۱	پنبه
۵۹,۶	۸۸,۲	۶۲,۹	ویسکوز
۶۱,۷	۸۹,۲	۶۹,۶	سلولز باکتریایی (ساکاروز)
۶۱,۳	۸۸,۳	۶۲,۹	سلولز باکتریایی (لاکتوز)
۱۸,۶	۱۹,۸	۵۲,۱	سلولز باکتریایی (گلوکز)

جدول ۱۲- d-spacing پیک‌های شاخص در صفحات بلوری نمونه‌های سلولزی.

۲۲٫۷	۱۶٫۸	۱۴٫۸	پیک (۲θ) نمونه سلولزی
۳٫۹۸ A°	۵٫۳۰ A°	۶٫۰۶ A°	پنبه
۳٫۹۸ A°	۵٫۲۹ A°	۶٫۱۵ A°	سلولز باکتریایی (لاکتوز)
۳٫۹۴ A°	۵٫۳۲ A°	۶٫۲۰ A°	سلولز باکتریایی (گلوکز)
۳٫۹۹ A°	۵٫۲۷ A°	۶٫۲۷ A°	سلولز باکتریایی (ساکاروز)

جدول ۱۳- d-spacing پیک‌های شاخص در صفحات بلوری نمونه‌های پژوهش Yan و همکاران [۲۱].

۲۲٫۷	۱۶٫۸	۱۴٫۸	پیک (۲θ) نمونه سلولزی
۳٫۹۴ A°	۵٫۲۸ A°	۶٫۲۲ A°	سلولز باکتریایی
۳٫۸۶ A°	۵٫۱۹ A°	۵٫۹۵ A°	سلولز باکتریایی دارای نانو نقره
۳٫۹۷ A°	۵٫۳۵ A°	۶٫۱۶ A°	ترکیب سلولز باکتریایی- نانولوله کربن دارای نانو نقره



شکل ۹- تصویرهای میکروسکوپ الکترونی SEM سلولز باکتریایی تولید شده از الف) ساکاروز- با بزرگنمایی $15000\times$ ،
ب) لاکتوز با بزرگنمایی $15000\times$ ، ج) گلوکز با بزرگنمایی $15000\times$ ، د) الیاف پنبه با بزرگنمایی $500\times$ ،
ه) الیاف ویسکوز با بزرگنمایی $500\times$

جدول ۱۴- درصد رطوبت بازیافتی نمونه‌های سلولزی.

نمونه سلولزی	میانگین درصد رطوبت بازیافتی [*]
پنبه	۷/۰۹
ویسکوز	۱۳/۳۳
ساکاروز	۱۱/۳۵
لاکتوز	۱۰/۲۹
گلوکز	۱۰/۳۷

* بعد از ۶ بار تکرار آزمایش

جدول ۱۵- درصد رطوبت بازیافتی الیاف پنبه و ویسکوز [۲۰].

لیف	درصد رطوبت بازیافتی استاندارد	درصد رطوبت بازیافتی تجاری
پنبه	۸/۵	۸-۷
ویسکوز	۱۳	۱۴-۱۲

جذب رطوبت زیاد، زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری آن می‌توان دریافت که پژوهشگران به دنبال استفاده از آن به عنوان یک منبع تجدیدپذیر مناسب برای تولید انواع فرآورده‌های سلولزی از کاغذ تا رگ مصنوعی به جای درختان و گیاهان هستند. با مروری بر پژوهش‌های گذشته، دیده می‌شود که تاکنون پژوهشی جامع بر روی تولید سلولز میکروبی به دست آمده از سویه بومی (ایرانی) استویاکتر انجام نگرفته است و افزون بر این موضوع، تأثیر منابع کربوهیدراتی گوناگون بر روی کیفیت سلولز میکروبی به دست آمده نیز بررسی نشده است؛ به همین دلیل در این پژوهش در مرحله اول به تولید سلولز میکروبی با استفاده از سویه‌ای بومی (ایرانی) پرداخته شد و دانش تولید این پلیمر زیستی بومی‌سازی شد؛ سپس در مرحله دوم به بررسی ویژگی‌های سلولز میکروبی از سه منبع کربوهیدراتی ساکاریدی پرداخته شد و نتیجه‌ها نشان داد که در تولید ایستای لایه‌های نانو الیاف سلولز باکتریایی، بیشترین وزن تر و خشک به‌دست آمده بعد از گذشت ۱۶ روز، مربوط به لایه نانو الیاف سلولز باکتریایی تولید شده از گلوکز است. همچنین عرض نانو الیاف فیبری سلولزهای باکتریایی با این روش کمتر از ۱۰۰ نانومتر است و درصد بلوری لایه‌های تولیدی از هر سه منبع نسبت به سلولز طبیعی موجود در پنبه کمتر (۱۵-۱۰٪) و نسبت به سلولز بازیافتی موجود در ویسکوز بیشتر (۱۳-۹٪) است. ساختار بلوری تمام سلولزهای باکتریایی تولیدی از نوع I بود لیکن مقدار سلولز I آلفای آنها متفاوت بود.

تصویر SEM نانو الیاف فیبری سلولز باکتریایی تولید شده از ساکاروز است و عرض نانو الیاف فیبری برای این نوع سلولز در بازه‌ی ۶۳ تا ۸۸ نانومتر برآورد شد. شکل ۹- ب تصویر SEM نانو الیاف فیبری سلولز باکتریایی تولید شده از لاکتوز است که همانگونه که در شکل مشخص است عرض نانو الیاف فیبری برای این نوع سلولز در بازه ۶۸ تا ۹۷ نانومتر قرار دارد. شکل ۹- ج تصویر SEM نانو الیاف فیبری سلولز باکتریایی تولید شده از گلوکز است و عرض نانو الیاف برای این نوع سلولز نیز بین ۷۸ تا ۹۸ نانومتر به‌دست آمد.

شکل ۹- د و ه به ترتیب تصویرهای SEM الیاف پنبه و ویسکوز است. از این تصویرها، عرض الیاف پنبه در بازه‌ی ۸۷۴-۵۹ میکرون و عرض الیاف ویسکوز ۹۰۳-۷۱۱ میکرون، دیده شد. همچنین همانگونه که در تصویرهای ۹- د و ه قابل دیدن است الیاف ویسکوز به صورت رشته‌هایی مضرس و الیاف پنبه به صورت رشته‌هایی پیچ خورده و تابدار دیده می‌شود و این در حالی است که الیاف سلولز باکتریایی شبیه به شبکه‌ای یک تکه است. تفاوت اندازه در قطر نانو الیاف سلولز میکروبی و دو گونه دیگر سلولز در شکل‌های ۹- الف الی ۹- ه به خوبی دیده می‌شود و این تفاوت قطر منجر به ایجاد سطح ویژه‌ی وسیع برای سلولز میکروبی می‌شود [۶،۹] و زمینه نگهداری بیشتر مایعات، استحکام مکانیکی و همچنین سایر ویژگی‌های منحصر به فرد این پلیمر زیستی را فراهم می‌آورد.

رطوبت بازیافتی

میزان درصد رطوبت بازیافتی از روش معادله ۴ به دست آمد. تمام عددهای به دست آمده از درصد رطوبت بازیافتی در جدول ۱۴ آورده شده است. بالاترین درصد رطوبت بازیافتی مربوط به ویسکوز و پایین‌ترین مربوط به پنبه است. در بین سلولزهای باکتریایی، سلولز تولید شده از ساکاروز بالاترین درصد رطوبت بازیافتی دارا است. درصد رطوبت بازیافتی الیاف پنبه و ویسکوز که در کتاب "خصوصیات فیزیکی الیاف نساجی" آورده شده به صورت جدول ۱۵ است [۳۲].

نتیجه‌گیری

با نگاهی به رشد روزافزون پژوهش‌ها بر روی سلولز میکروبی و برتری‌های منحصر به فرد این پلیمر زیستی همچون خلوص بالا،

خلوص مناسب سلولز میکروبی آن را می توان جایگزین مناسبی برای تولید برخی فراورده های سلولزی به ویژه برای استفاده های خاص پزشکی همچون پانسمان و تولید پوست مصنوعی دانست.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸، ۱۲، ۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱، ۹، ۶

اندازه ی بلور نمونه های سلولز باکتریایی در حد اندازه ی بلور پنبه و از اندازه ی بلور ویسکوز بزرگتر بود. میزان رطوبت بازیافتی سلولزهای باکتریایی نیز نسبت به سلولز طبیعی پنبه مقدارهای بیشتر (۵٪) و نسبت به سلولز بازیافتی ویسکوز کمتر (۳٪) بود و با توجه به وجود ساختار شیمیایی یکسان و همچنین

مراجع

- [1] Retegi A., Gabilondo N., Pena C., de la Caba K., Mondragon I., Bacterial Cellulose Flms with Controlled Microstructure-Mechanical Property Relationships, *Cellulose*, **17**, p. 661 (2010).
- [2] Shezada O., Khana S., Khanb T., Kon Park J., Physicochemical and Mechanical Characterization of Bacterial Cellulose Produced with an Excellent Productivity in Static Conditions Using a Simple Fed-Batch Cultivation Strategy, *Carbohydrate Polymers*, **82**, p. 173 (2010).
- [3] Barreiro A.M., Recouvreux D.O., SPorto L.M., Rambo C.R., Hotza D., Sand Dollar Skeleton as Templates for Bacterial Cellulose Coating and Apatite Precipitation, *J Mater Sci*, **45**, p. 5252 (2010).
- [4] Cai Z., Kim J., Bacterial Cellulose/Poly(Ethylene Glycol) Composite: Characterization and First Evaluation of Biocompatibility, *Cellulose*, **17**, p. 83 (2010).
- [5] Khajavi R., Jahangirian Esfahani E., Sattari M., Crystalline Structure of Microbial Cellulose Compared with Native and Regenerated Cellulose, *International Journal of Polymeric Materials*, **60**, p. 1178 (2011).
- [6] Yang C., Tang T., Zhang S., Dai K., Gao C., Wan Y., Preparation and Characterization of Three-Dimension Nanostructured Macroporous Bacterial Cellulose/Agarose Scaffold for Tissue Engineering, *J Porous Mater*, **18**, p. 545 (2010).
- [7] Eichhorn S.J., Dufresne A., Aranguren M., Marcovich N. E., Review: Current International Research into Cellulose Nanofibres and Nanocomposites, *J Mater Sci*, **45**, p. 1 (2010).
- [8] Goelzer F.D.E., Faria-Tischer P.C.S., Vitorino J.C., Sierakowski Maria -R., Tischer C.A., Production and Characterization of Nanospheres of Bacterial Cellulose from *Acetobacterxylinum* from Processed Rice Bark, *Materials Science and Engineering C*, **29**, p. 546 (2009).
- [9] Meftahi A., Khajavi R., Rashidi A., Sattari M., Yazdanshenas M. E., Torabi M., The Effects of Cotton Gauze Coating with Microbial Cellulose, *Cellulose*, **17**, p. 199 (2010).
- [10] Kumar Pandey L., Saxena Ch., Dubey V., Studies on Pervaporative Characteristics of Bacterial Cellulose Membrane, *Separation and Purification Technology*, **42**, p. 213 (2005).

- [11] Kim j., Cai Z., Lee H. S., Choi G. S., Lee D. H., Jo C., Preparation and Characterization of a Bacterial Cellulose/Chitosan Composite for Potential Biomedical Application, *J Polym Res*, **18**, p. 739 (2010).
- [12] Thawatchai M., Seiichi T., Ratana R., Impregnation of Silver Nanoparticles into Bacterial Cellulose for Antimicrobial Wound Dressing, *Carbohydrate Polymers*, **72**, p. 43 (2008) .
- [13] Wojciech K. Czaja, David J. Young, Marek Kawecki, R. Malcolm Brown, Jr. The Future Prospects of Microbial Cellulose in Biomedical Applications, *Biomacromolecules*, **8**(1), p. 1 (2007).
- [14] Klemm D., Schumann D., Udhardt U., Marsch S., Bacterial Synthesized Cellulose-Artificial Blood Vessels for Microsurgery, *Program In Polymer Science*, **26**, p. 1561 (2001).
- [15] Alexander S., Robert H., "Biopolymers For Medical and Pharmaceutical Application", 1st Reprint, Wiley - VCH (2005).
- [16] Brown M., Johnson B., "Microbial Synthesis of Cellulose", 1st Reprint, The University of Texas at Austin, (1982).
- [17] Yu X., Rajai H.A., Production of Cellulose II by Acetobacter Xylinum in the Presence of 2,6-dichlorobenzonitrile, *International Journal of Biological Macromolecules*, **19**, p. 145(1996).
- [18] Keshk S., Sameshima K., Evaluation of Different Carbon Sources for Bacterial Cellulose Pproduction, *African Journal of Biotechnology*, **4**(6), p. 478 (2005).
- [19] Surma B., Presler S., Dariusz D., Characteristics of Bacterial Cellulose Obtained from Acetobacter Xylinum Culture for Application in Papermaking, *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, **116** , 4(69), p. 108 (2007).
- [20] Yan Z., Chen S., Wang H., Wang B., Wang C., Cellulose Synthesized by Acetobacter Xylinum in the Presence of Multi-Walled Carbon Nanotubes, *Carbohydrate Research*, **343**, p. 73 (2008).
- [21] Phisalaphong M., Jatupaiboon N., Biosynthesis and Characterization of Bacteria Cellulose-Chitosan Film, *CarboHydrate*, **74**, p. 482 (2008).
- [22] Chen S., Zou Y., Yan Zh., Shen W., Shi S., Zhang X., Wang H., Carboxymethylated-bacterial Cellulose for Copper and Lead ion Removal, *Journal of Hazardous Materials*, **161**, p. 1355 (2008).
- [23] Keshk S., Homogenous Reactions of Cellulose from Different Natural Sources, *Carbohydrate Polymers*, **74**, p. 942 (2008).
- [24] Golezer F., Tischer P., Vitorino J., Sierakowski M., Tischer C., Production and Characterization of Nanospheres of Bacterial Cellulose from Acetobacterxylinum from Processed Rice Bark, *Materials Science and Engineering*, **29** p. 546 (2008).
- [25] Oh S.Y., Yoo D.I., Shin Y., Kim H.C., Kim H.Y., Chung Y.S., Park W.H., Youk J.H., Crystalline Structure Analysis of Cellulose Treated with Sodium Hydroxide and Carbon Dioxide by Means of X-Ray Diffraction and FTIR Spectroscopy, *Carbohydrate Research*, **340**, p. 2376 (2005).

- [26] Wang S., Cheng Q., Rials T.G., Lee S.H., "Cellulose Microfibril/Nanofibril and Its Nanocomposites, Tennessee Forest Products Center", University of Tennessee, pp. 303-308(2006).
- [27] Li X., Chen S., Hu W., Shi S., Shen W., Zhang X., Wang H., In Situ Synthesis of CdS Nanoparticles on Bacterial Cellulose Nanofibers, *Carbohydrate Polymers*, **76** p. 509 (2009).
- [28] Atalla R.H., Hackney J.M., Hemicelluloses as Structure Regulators in the Aggregation of Native Cellulose, *Int. J. Biol. Macromol*, **1**, p. 109 (1993).
- [29] Chung C., Lee M., Choe E.K., Characterization of Cotton Fabric Scouring by FT-IR ATR Spectroscopy, *Carbohydrate Polymers*, **58**, p. 417 (2004).
- [30] Oh S.Y., Yoo D.I., Shin Y., Sep G., FTIR Analysis of Cellulose Treated with Sodium Hydroxide and Carbon Dioxide, *Carbohydrate Research*, **340**, p. 417 (2005).
- [31] Brown E., Bacterial Cellulose/Thermoplastic Polymer Nanocomposites, *Master of Science in Chemical Engineering*, Washington State University (2007).
- [32] Morton W. E., and Hearle J. W. S., Physical Properties of Textile Fibers, 1 st Reprint The Textile Institute, Manchester (1986).
- [33] Yan Z., Chen S., Wang H., Wang B., Jiang J., Biosynthesis of Bacterial Cellulose/Multi-Walled Carbon Nanotubes in Agitated Culture, *Carbohydrate Polymers*, **74**, p. 1 (2008).