تكنولوجيا الصناعات الميكروبية

Technology of Microbial Industries

الأستاذة الدكتورة / نادية رفعت عبد الرحمن

رئيس مجلس قسم علوم الأغذية

كلية الزراعة - جامعة عين شمس

مكتبة المعارف الحديثة

٢٣ ش تاج الرؤساء سابا باشا الإسكندرية

ت: ٥٤٤٥٥٥١ - ٥٨٢٦٩٠٢

obeikandl.com

obeikandl.com

-22 تكنولوجيا الصناعات الميكروبية

Technology of Microbial Industries

الأستاذة الدكتورة / نادية رفعت عبد الرحمن

قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة عين شمس

		رقم الصفحة
	تكنولوجيا الصناعات الميكروبية	1
22 - 1	تطور الصناعات الميكروبية	2
22 - 2	تقسيم الصناعات الميكروبية	4
22 - 2 - 1	منتجات الأيض	4
22 - 2 - 2	نوع الميكروب	6
22 - 2 - 3	تأثير الأكسجين	9
22 - 2 - 4	الأهمية التجارية	10
22 - 2 - 5	المنتج النهائى	10
22 - 3	أسس عملية التخمر	10
22 - 4	نظم المخمرات والمفاعلات الحيوية	12
22 - 4 - 1	المفاعلات الحيوية ذات الحشوات الداخلية	13
22 - 4 - 2	مفاعلات الطبقة المرفوعة	15
22 - 4 - 3	مفاعلات الطبقة المغمورة	16
22 - 4 - 4	مفاعلات الأنزيمات أو الخلايا المحملة	16
22 - 4 - 5	تركيب المخمر الهوائى	18
22 - 4 - 6	مراقبة عمليات التشغيل والتحكم فيها	21
22 - 4 - 7	نقل النموذج المعملى لعملية التخمر إلى النطاق الصناعى	23
22 - 5	إنتاج مزارع البادئات	25
22 - 6	المواد الخام اللازمة للصناعات الميكروبية	29
22 - 7	إنتاج الكتلة الحيوية	34
22 - 7 - 1	إنتاج الخميـرة	
22 - 7 - 2	إنتاج البروتين الميكروبى	40

obeikandl.com

رقم الصفحة

22 - 7 - 3	إنتاج الزيوت الميكروبية	51
22 - 8	الأغذية المتخمرة	54
22 - 8 - 1	المشروبات الكحولية	
22 - 8 - 2	منتجات الخضر والفاكهة المتخمرة	62
22 - 8 - 3	منتجات الحبوب المتخمرة	70
22 - 8 - 4	منتجات اللحوم المتخمرة	76
22 - 8 - 5	منتجات الأسماك المتخمرة	78
22 - 8 - 6	منتجات البقوليات المتخمرة	79
22 - 8 - 7	منتجات أخـرى	81
22 - 9	المواد المضافة للأغذية	83
22 - 9 - 1	الأحماض الأمينية	83
22 - 9 - 2	الفيتامينات	85
22 - 9 - 3	المنكهات	85
22 - 9 - 4	الصبغات	87
22 - 10	الأنزيمـــات	89
22 - 11	الكيماويات الصناعية	96
22 - 11 - 1	إنتاج الإيثانول	97
22 - 11 - 2	إنتاج حامض الستريك	99
22 - 11 - 3	إنتاج حامض الجلوكونيك	
22 - 11 - 4	إنتاج حامض اللاكتيك	101
22 - 11 - 5	إنتاج حامض الخليك	101
22 - 11 - 6	إنتاج الجليسرول	102
22 - 11 - 7	إنتاج السكريات العديدة	102
22 - 12	المنتجات ذات القيمة العلاجية	103
22 - 12 - 1	المضادات الحيوية	103
22 - 12 - 2	الإسترويدات	108
22 - 12 - 3	قلويدات الأرجوت	108
22 - 12 - 4	المنتجات الميكروبية باستخدام الهندسة الوراثية	110
22 - 12 - 5	الفاكسينات	111
22 - 12 - 6	الأجسم المضادة	114
22 - 13	المراجع	115

obeikandl.com

22 - تكنولوجيا الصناعات الميكروبية :

Technology of Microbial Industries

العصر الحالى يمثل فترة زمنية تمتاز بثورة صناعية تلعب فيها تكنولوجيا الصناعات الميكروبية دوراً رئيسياً سواء من خلال مفهوم الصناعات الميكروبية أو الصناعات التخميرية أو التكنولوجيا الحيوية. وتعتمد هذه التكنولوجيا بصفة أساسية على إستخدام الكائن الحى بجميع صوره.

وقد ظهرت هذه التكنولوجيا منذ زمن بعيد وإن لم يتم تطويرها بشكل كبير إلا فى بداية القرن العشرين عندما أزدهر البحث العلمى، فقبل حلول القرن العشرين تضمنت هذه التكنولوجيا العديد من العمليات التقليدية مثل عملية تخمير الخبز والنبيذ وفول الصويا وصناعة الجبن. ومع تطور العلم فى النصف الأول من القرن العشرين أمكن إنتاج العديد من مواد الأيض الثانوية مثل الإنتاج الميكروبى للمضادات الحيوية كالبنسلين، والمواد المخلقة حيوياً كالأحماض الأمينية والإنزيمات والفيتامينات واللقاحات.

وحديثاً أعتمد على إمكانية التعديل الجينى وإحداث الطفرات ونقل الجينات وإستخدام الكائنات المعدلة وراثياً فى إنتاج العديد من المركبات الهامة مثل تخليق الأنسولين البشرى humlin وفاكسين الألتهاب الكبدى B ..... إلى آخره من المحاولات فى مجال التكنولوجيا الحيوية الحديثة.

وللتكنولوجيا الحيوية تطبيقات هامة فى مجال التصنيع الغذائى مثل تحويل السكريات العديدة إلى جلوكوز وإنتاج المشروبات المتخمرة وتحسين خواص عصائر الفاكهة (ترويق تلك المنتجات) وكذلك تصنيع الجبن وتطرية اللحوم وإعطاء النكهة وتحسينها فى منتجات الألبان، وإنتاج الإنزيمات مثل الليبيز والأميليز، وإنتاج خميرة الخباز، وحمض اللاكتيك وغيرها من المواد العضوية الهامة اللازمة للعديد من الأغراض.

أشتق تعبير fermentation من الفعل اللاتينى *fever* ومعناه بالإنجليزية to boil أى الغليان أو تكوين فقاقيع وهذا المعنى أول ما طبق كان على التفاعلات التى تحدث خلال إنتاج النبيذ أو المشروبات الكحولية نتيجة لفعل الخميرة (yeast) على مستخلص الفواكه أو

الحبوب. وقد عزى تكوين هذه الفقاعات إلى إنتاج ثانى أكسيد الكربون نتيجة للهدم اللاهوائى للسكر والتى أثبتت دراسة العالمGay Lussac أن هذه التغييرات عبارة عن عمليات تحلل السكر إلى كحول وثانى أكسيد الكربون. ثم أيدت أبحاث العالم باستير أن هذا المعنى مرتبط بوجود الميكروبات أو الإنزيمات المسببة لهذا التحلل. كما أثبتت الدراسات بعد ذلك أنه لا يشترط إرتباط كلمة التخمرfermentation بتصاعد غاز ثانى أكسيد الكربون فى عملية التخمر حيث أن بعض المنتجات المتخمرة لا يصاحبها تكوين غاز مثل إنتاج حمض اللاكتيك.

وقد أختلف تعريف التخمر بإختلاف المجال، فعلماء الكيمياء الحيوية يعرفوه بأنه عبارة عن عمليات هدم المواد العضوية التى ينتج عنها طاقة، بينما فى مجال التصنيع الميكروبى تم تعريفه تحت العديد من المعانى لإتساع المجال. والمعنى المحدد له من الوجهة العلمية البحتة أنها عمليات الأكسدة البيولوجية غير الكاملة للمواد العضوية التى يكون فيها المعطى والمستقبل النهائى للإلكترونات مواد عضوية وبالتالى فإنها عمليات لاهوائية ولكن من الوجهة التطبيقية فإن إصطلاح التخمر عبارة عن العمليات التى تشمل تحول المواد العضوية عن طريق نشاط الإنزيمات المفرزة بواسطة الميكروبات أو غيرها من الخلايا إلى منتجات مختلفة سواء تحت ظروف هوائية أو لاهوائية. ويعبر عن التخمر فى مجال تطبيقه فى الأغذية بصفة خاصة بأنه عبارة عن حث التغييرات الكيماوية المرغوبة بالأغذية إنزيميا ومصدر هذه الإنزيمات إما عن طريق الإنزيمات الذاتية فى الأغذية أو الميكروبات المستخدمة فى التصنيع، والمنتجات الناتجة من هذا النشاط الحيوى تعتمد على عدة عوامل أهمها:

نوع الميكروب – الأكسجين – درجة الحرارة – درجة الحموضة – نوع المادة الخام وغيرها من العوامل المحيطة المؤثرة على معدل التفاعل والنواتج المتكونة.

22 - 1 تطور الصناعات الميكروبية : Development of microbial industries

يوضح جدول رقم 22 - 1 مراحل تطور الصناعة الميكروبية حيث قسمت إلى خمس مراحل، المرحلة الأولى ما قبل عام1900 والثانية تشمل الفترة من 1900 حتى 1940 والمرحلة الثالثة بداية من1940 والرابعة بداية من 1960 أما المرحلة الخامسة فتشمل الفترة

من 1979 حتى يومنا هذا. ويوضح جدول رقم 22 - 1 أهم المنتجات فى هذه المراحل وطريقة الإنتاج والبادئ الميكروبى المستخدم.

جدول رقم 22 - 1 : المراحل المختلفة لتطور الصناعات الميكروبية

المرحلة الزمنية	المنتج الرئيسى	الأوعية المستخدمة فى الإنتاج	طريقة التنمية	البادئ المستخدم
(1) ما قبل 1900	الكحول	البراميل الخشبية	نظام الدفعات	مزارع الخميرة الذاتية
	الخل	الأوعية النحاسية	نظام الدفعات	التقويح بخل جيد
		البراميل - الصوانى الضحلة - المرشحات الدقيقة.		
(2)1900 - 1940	خميرة الخباز - الجليسيرول	أوعية من الصلب غير قابل للصدأ. مزودة بموزع هواء ومقلب ميكانيكى.	نظام الدفعات	مزارع نقية
	حمض الستريك - حمض اللاكتيك - الأسيتون - البيوتانول.		نظام الدفعات مع تغذية مستمرة.	
(3) بداية من 1940	البنسلين - استربتوميسين وغيرها من المضادات الحيوية - جبريلينات - أحماض أمينية - نيوكليوتيدات - إنزيمات.	أوعية معقمة مزودة بنظام تهوية ميكانيكى - مخمرات معقمة.	نظام الدفعات أو المزارع المستمرة.	مزارع مطفرة ومنتخبة
(4) بداية من 1960	بروتين وحيد الخلية بإستخدام الهيدروكربونات وخامات أخرى.	نظم تخمر تحت ضغط مع التحكم فى تبادل الغازات والحرارة وإستخدام الكمبيوتر فى التحكم.	مزارع مستمرة مع أعادة تدوير البيئة.	سلالات معدلة بالهندسة الوراثية.
(5) بداية من1979	المواد غير شائعة الإنتاج والتى لا تنتج بواسطة الميكروبات مثل الأنسولين.	مخمرات من ثلاث أو أربع مراحل مع تحكم الكترونى للمراحل.	نظام الدفعات مع تغذية مستمرة أو مزارع مستمرة.	إدخال جينات جديدة للميكروب المستخدم بإستخدام الهندسة الوراثية.

المصدر : Stanbury and Whitaker, (1984).

22 - 2 تقسيم الصناعات الميكروبية : Classification of microbial industries

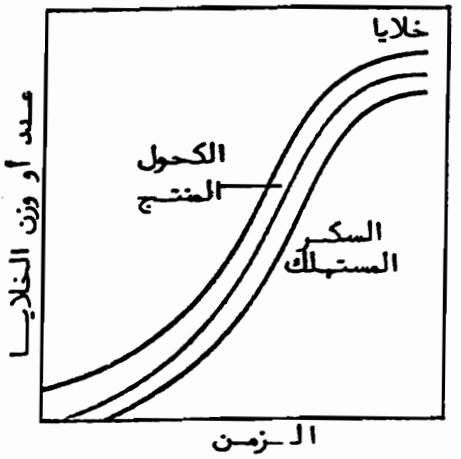
يمكن تقسيم الصناعات الميكروبية أو الصناعات التخميرية بأكثر من طريقة بناء على أسس مختلفة كما يلى:

22 - 2 - 1 نوع منتجات الأيض : Type of metabolites

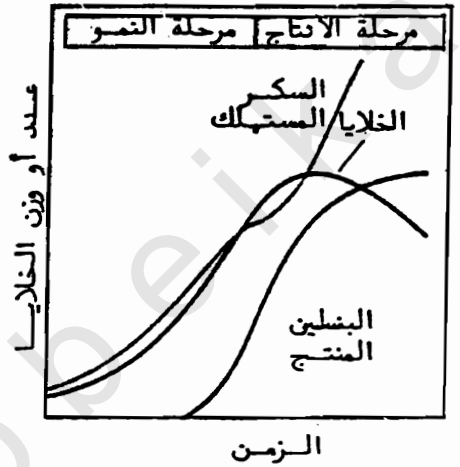
تقسم منتجات الأيض الميكروبى إلى منتجات الأيض الأولية ومنتجات الأيض الثانوية.

أولاً : منتجات أيض أولية : primary metabolites

وهذه تشمل منتجات الأيض الأولى التى تنتج خلال المراحل الأولى من نمو الميكروب من كحولات – كيتونات – أحماض عضوية – أحماض أمينية – نيوكليونيدات – سكاكر عديدة. حيث أن إنتاج هذه المواد يكون فى إتجاه طردى مع النمو كما هو موضح فى الشكل رقم 22 - 1.



شكل رقم 22 - 1 : إنتاج الكحول بواسطة الخميرة (منتج أيضى أولى)



شكل رقم 22 - 1 : إنتاج البنسلين بواسطة فطر *Penicillium crysogenum* (منتج أيضى ثانوى)

المصدر : Brock., *et. al.* (1994) .

ثانياً : منتجات أيض ثانوية : Secondary metabolites

وهذه تضم نواتج الأيض الثانوى التى لا تنتج أثناء مراحل النمو الأولى للميكروب ولكنها تنتج قرب مرحلة الثبات فى منحنى نمو الخلايا وهذه مثل المبيدات الحيوية – الجبرلينات – القلويدات، ويضاف لها المضادات الحيوية والتى تعتبر من أهم المنتجات (شكل رقم 22 - 2) .

وفيما يلى أهم ما يميز منتجات الأيض الثانوية عن المنتجات الأولية:

– منتجات الأيض الثانوية لا تكونها إلا أنواع معينة من الميكروبات.

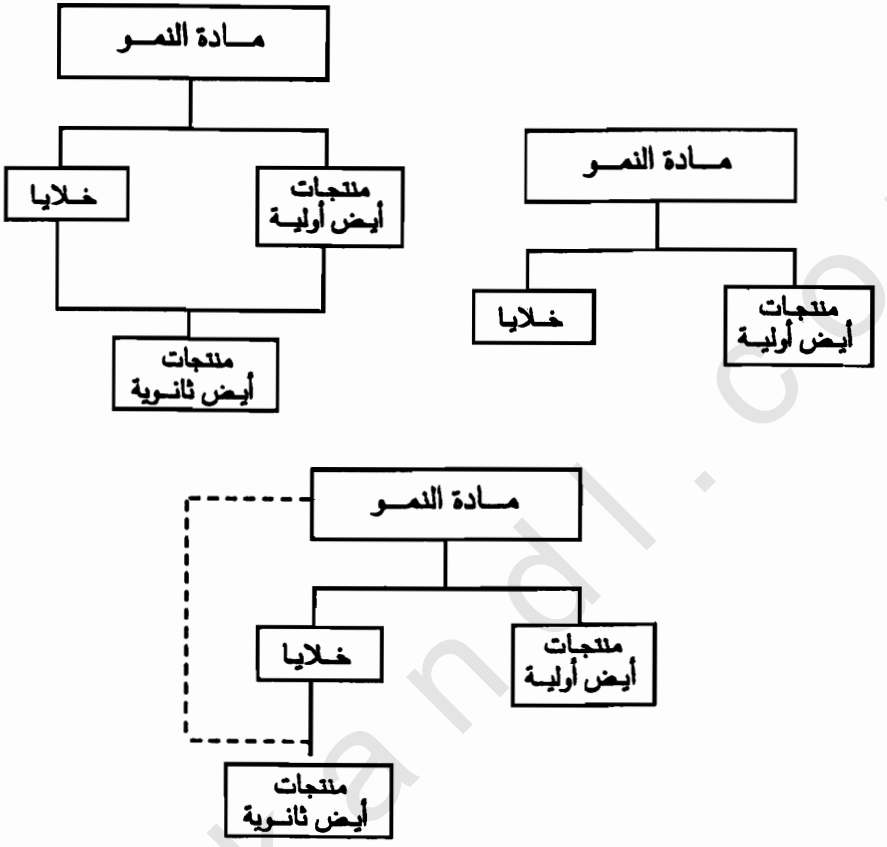
– منتجات الأيض الثانوية غير أساسية لنمو وتكاثر الخلايا.

– يعتمد تكوين المنتجات الثانوية على ظروف النمو وبصفة خاصة على تركيب البيئة وقد يحدث أحياناً تثبيط لتكوين هذه المنتجات.

– قد تحول الخلايا منتجات الأيض الأولية بعد تكوينها إلى منتجات ثانوية أو أنها بعد إنتاج المنتجات الأولية تتجه لتكوين المنتجات الثانوية من المادة الأولية كما هو موضح فى الشكل رقم 22 - 3 .

– معظم المنتجات الثانوية عبارة عن مركبات عضوية معقدة تحتاج لعدد كبير من التفاعلات الإنزيمية لتخليقها . فمثلاً لتكوين المضاد الحيوى تتراسيكلين يحتاج 72 خطوة تفاعل إنزيمى كما أن هناك ما يزيد عن 25 تفاعل إنزيمى عند تخليق الإريثروميسين.

– وفى الأيض الثانوى يطلق على المرحلتين الأساسيتين للأيض المرحلة الأولى trophase وهى عبارة عن مرحلة نمو الخلايا بينما مرحلة إنتاج مواد الأيض يطلق عليها idiophase لذلك لابد من توافر الظروف الملائمة لأقصى نمو فى المرحلة الأولى بينما يجب توافر الظروف الملائمة لإنتاج نواتج الأيض الثانوية فى المرحلة الثانية.



شكل رقم 22 - 3 : مقارنة بين منتجات الأيض الأولية والثانوية

المصدر : Brock, *et al.* (1994).

22 - 2 - 2 نـوع الميكروب : Type of microorganism

أولا: صناعات ميكروبية قائمة على الخمائر:

حيث تقسم الإستعمالات الصناعية للخميرة إلى ثلاث مجاميع تبعاً لعلاقة المنتج والتحولات البيولوجية الكيماوية بالميكروب.

أولاً : مكونات الخلية Cell constituents

ثانياً : المنتجات المفرزة Excretion products

ثالثاً : المركبات المنتجة لفعل إنزيمات الخلية على مواد التفاعل.

وتقسم المجموعة (الأولى) إلى :

الخلية الكاملة الجافة والمستخدمة كمواد مدعمة للغذاء.

اللبيدات والبروتينات والإنزيمات والأحماض النووية.

المركبات المستخلصة مثل المرافقات الإنزيمية والفيتامينات.

منتجات التحلل مثل الأحماض الأمينية والبيورينات والبريميدات.

أما المجموعة (الثانية) فتضم منتجات هامة مثل ثانى أكسيد الكربون والجليسيرول والإيثانول. ... أما المجموعة (الثالثة) فتضم نواتج تحلل الكربوهيدرات والبروتينات والدهون ... إلخ.

ومن أهم السلالات المستخدمة *Saccharomyces cerevisiae*

Kluyveromyces marxians (S. fraglis), S. bayanus (S. uvarun) , Rhodotorula spp. , *Pichia jadinii (Candida. utilis).*

ثانياً: صناعات ميكروبية قائمة على الأعفان (molds) :

تساهم الأعفان (molds) بدور كبير فى الصناعات الميكروبية والتى هى بدورها لها مجالات تطبيقية كثيرة مثل الصناعات الدوائية والصناعات الغذائية والألبان وغيرها من الصناعات حيث ينتج بواسطة الأعفان أحماض عضوية مختلفة وإنزيمات ومضادات حيوية، كما تستخدم فى تسوية بعض أنواع الجبن وفى تغذية الإنسان والحيوان كمصدر للبروتينات أو الدهون والأغذية الشرقية.

الأعفان التى تستخدم فى مجال التصنيع تقع تحت الأجناس الآتية:

Aspergillus , Penicillium, Rhizopus, Mucor.

ثالثاً: صناعات ميكروبية قائمة على البكتريا :

تلعب البكتريا دوراً كبير فى مجال الصناعات الميكروبية مثلها مثل الأعفان والخمائر ، وتقسم البكتريا المستخدمة فى الصناعات الميكروبية إلى أربع مجاميع وهى :

obeikandl.com

1- المجموعة الأولى :

من أهم أجناس هذه المجموعة جنس *Acetobacter* وأفراده تنتشر فى الطبيعة خاصة على أسطح النباتات وتقوم بأكسدة المركبات العضوية إلى أحماض عضوية ولها دور هام فى إنتاج الخل مثل: *Acetobacter aceti.* , *Acetobacter pasteurianus (turbidans)*

2- المجموعة الثانية :

هى تضم ثلاث أجناس هامة فى الصناعات الميكروبية.

أ - جنس *Lactococcus (Streptococcus)*

تستخدم سلالات هذا الجنس فى صناعات منتجات الألبان مثل الجبن والزبادى والزبد وأهم الأنواع التابعة لهذا الجنس هى :

Lactococcus lactis subsp. *lactis. (Streptococcus lactis.)*

Lactococcus lactis subsp. *cremoris. (Streptococcus cremoris.)*

ب - جنس *Leuconostoc*

تتميز أنواع هذا الجنس بأنها غير متجانسة التخمرhetero fermentative وتعتبر هامة جداً فى بداية تخمير (تخليل) الخضر وأهم أفراد هذا الجنس هى: *L. paramesenteroides*

L. mesenteroides subsp. *dextranicum (L. dextranicum)*

L. mesenteroides subsp. *cremoris (L. cremoris)*

جـ - جنس *Pediococcus*

أفراده مترممة توجد على الخضروات المتخمرة واللحوم والبيرة وأهم أنواع هذا الجنس *Pediococcus acidilactici (P. cerevisiae)*

P. pentosaceaus, P.halophilus (Tetragenococcus halophilus (P. halophilus)

3- المجموعة الثالثة :

أهم جنس تابع لهذه المجموعة هو جنس *Lactobacillus* وينقسم هذا الجنس إلى :

أ - Homofermentative lactobcillus .

وأهم الأنواع التابعة له هى:

Lactobacillus delbrueckii subsp. *delbrueckii.*

L. delbrueckii subsp. *Lactis.*

L. delbrueckii subsp. *bulgaricus.*

L. acido philus. , L. plantarum vairudensis (L. plantarm). L. casei.

ب – Heterofermentative Lactobacillus .

وأهم الأنواع التابعة له هى :

Lactobacillus fermentum. , L. brevis., L. buchneri.

4– المجوعة الرابعة :

وهى تضم جنس واحد هام فى التصنيع الميكروبى وهو جنس Propionibacterium وهذا الجنس يضم ثمان أنواع منها أربع أنواع فقط هامة فى الصناعات الميكروبية خاصة الألبان ومنتجاتها وهذه الأنواع هى :

Propionibacterium thoenii. P. jensenii, P. acidipropionici

P. freudenreichii subsp. *freudenreichii.*

22 - 2 - 3 تأثيـر الأكسجين :

أولاً : تخمرات هوائية aerobic fermentations

تكون فيها عمليات الهدم مصحوبة بإستخدام الأكسجين الذى يقوم بدور المستقبل النهائى للألكترونات مثل إنتاج حمض الستريك وحمض الخليك وغيرها من المنتجات.

ثانياً : تخمرات لا هوائية anaerobic fermentations

فيها تحل مواد أخرى محل الأكسجين كمستقبل للألكترونات كما فى إنتاج الكحولات والأسيتون وحامض اللاكتيك وحامض البيروفيك والألدهيدات وغيرها من المنتجات.

obeikandl.com

22 - 2 - 4 الأهميـة التجارية :

– المجموعة التى تنتج خلايا ميكروبية أو كتلة حيوية biomass كمنتج نهائى.

– المجموعة المسؤلة عن إنتاج الإنزيمات الميكروبية microbial enzymes.

– المجموعة المسؤلة عن إنتاج نواتج التمثيل الغذائى microbial metabolites.

– المجموعة التى تقوم بتحويل أو تعديل المركبات المضافة إلى بيئة التخمر إلى مركبات أخرى مطلوبة.

22 - 2 - 5 المنتج النهائى:

– إنتاج كتلة حيوية. Biomass production

– أغذية متخمرة . Fermented foods

– المواد المضافة للأغذية. Food additives

– الإنزيمات الصناعية. Industrial enzymes

– الكيماويات الصناعية. Industrial chemicals

– المنتجات ذات القيمة العلاجية. Health care products

22 - 3 أسس عمـلية التخمـر

بصرف النظر عن نوع التخمر (فيما عدا بعض الاستثناءات للظروف الخاصة لبعض عمليات التحول)، فإن عملية التخمر تقوم على ستة أسس رئيسية:

أولاً : التصميم الهندسى للمخمر بما يتناسب مع المنتج، والميكروب وطبيعة بيئة النمو وطريقة الإنتاج.

ثانياً : تركيب البيئة المستخدمة فى تنمية الميكروب المستخدم فى الإنتاج سواء خلال عملية النقل المتتالى لتنمية البادئ أو البيئة المستخدمة فى وعاء التخمير للإنتاج التجارى.

ثالثاً : تعقيم البيئة والمخمر وغيرها من المعدات المتعلقة بالإنتاج.

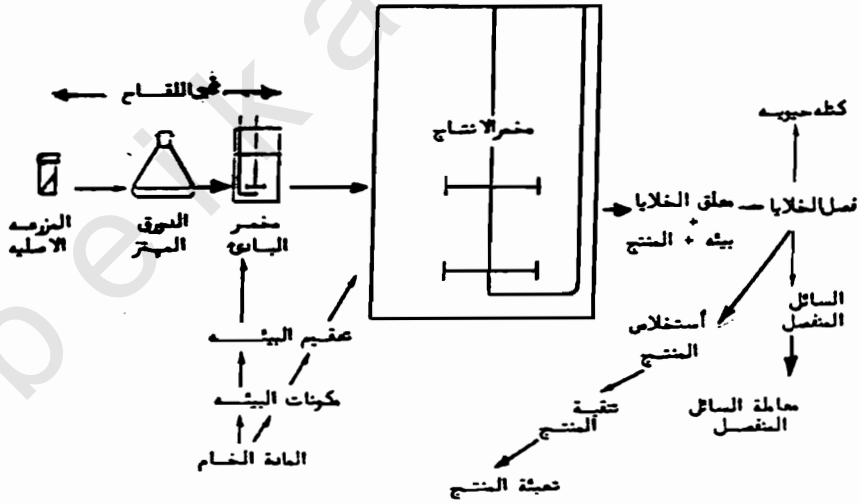
obeikandl.com

رابعاً : إنتاج مزرعة نقية نشطة بكمية كافية لإنتاج البادئ اللازم لتلقيح وعاء الإنتاج النهائى.

خامساً : تنمية الميكروب فى وعاء التخمير التجارى تحت الظروف المثلى لإنتاج المنتج النهائى مع مراعاة التقديرات والحسابات الخاصة بكل من كمية البادئ والعناصر الغذائية المكونة للبيئة والتهوية إن وجدت طبقاً لما يتناسب مع خطوة نقل الإنتاج من النطاق المعملى إلى النطاق التجارى Scale - up of the industrial process .

سادساً : إستخلاص المنتج النهائى وتنقيته وإستبعاد السائل المستخلص من عملية فصل المنتج النهائى.

والعلاقة بين هذه الأجزاء الستة موضحة فى شكل رقم 22 - 4 لذا يجب مراعاة كل جزء على حدة وأهميته بالنسبة للأجزاء الأخرى ومراعاة الظروف المثلى لتحسين كفاءة عملية الإنتاج ككل والوصول إلى منتج نهائى مثالى فى الجودة والكفاءة الإنتاجية للصناعات الميكروبية المختلفة.



شكل رقم22 - 4 : رسم تخطيطى لأسس عملية التخمير

المصدر : Stanbury & Whitaker (1984) .

22 - 4 نظم المخمرات والمفاعلات الحيوية

Fermentor and bioreactor systems

لا توجد هناك فروق جوهرية بين المخمرات والمفاعلات الحيوية، وبغض النظر عن نوع الجهاز وحجمه فإن المخمر يتكون أساساً من وعاء مغلق مزود بفتحة لدخول الهواء ومقلب ويتم بداخله سلسلة من التفاعلات الميكروبية والحيوية تحت ظروف بيئية محكمة بغرض الحصول على منتج نهائى تجارى. ويتم تصنيف المفاعلات الحيوية طبقاً لمراحل التفاعلات التى تتم بداخلها فإذا كانت التفاعلات تتم من خلال بيئة أو وسط أحادى المرحلة فيطلق عليها إسم مفاعلات متجانسة بينما تسمى المفاعلات التى تتم فيها التفاعلات على مراحل متعددة بالمفاعلات غير المتجانسة .

وبإستثناء كل من المعالجة الهوائية للمياه فى الصرف الصحى بنظام التدفق المستمر وكذا صناعة الخل وإنتاج الكتلة الحيوية الميكروبية فإن معظم الصناعات الحيوية مازالت تفضل إستخدام التشغيل المتقطع (نظام الدفعاتbatches) وذلك لأسباب تتعلق بشروط الآمان والمرونة.

ويبين الجدول رقم 22 - 2 التطور التاريخى للمفاعلات الحيوية والمقارنة بين أنواعها المختلفة ويلاحظ فيه أن التطور يتم بسرعة فى نظم المفاعلات الجديدة وخصوصاً للنظم التى توفر فى الطاقة المستخدمة. كما أن هناك تطوراً سريعاً يتم فى نظم المفاعلات غير المزودة بمقلبات ميكانيكية مثل المفاعلات التى تستخدم الإنزيمات والخلايا المحملة immobilized cells والتى يمكن أن تحل محل العمليات التخميرية مستقبلاً.

جدول رقم 22 - 2 : التطور التاريخى لأنواع المفاعلات الحيوية وإستخداماتها

نـــوع المفـاعل	إستخداماته
- الأوعية اللاهوائية - مفاعلات البيئة السطحية الصلبة.	- إنتاج الكحول والخميرة. - حمض الخليك، حمض الستريك، الإنزيمات التجارية الطحلبية.
- الوعاء ذو المقلب والبيئة المغمورة التى تعمل بنظام (السريان المختلط، السريان المستمر، الخلط العكسى).	- أمثلته كثيرة للإنزيمات المفرزة خارج الخلية مثل جلوكوز أميليز أو إنتاج هرمون الأستروبد أو النظم المحملة.
- مزرعة البروتين وحيد الخلية (على سبيل المثال: النظم المستمرة، ذات الحجم الإنتاجى الكبير، البرجية أو عالية الكثافة الإنتاجية). - المفاعلات ذات الحشوات الداخلية packed bed (على سبيل المثال: نظم المفاعلات المحملة).	- إنتاج الكتلة الحيوية. - إنتاج المشابهات الضوئية للجلوكوز، تحلل البنسلين، الفصل الإختيارى للأحماض الأمينية الراسيمية.
- الأبراج (الأعمدة) المهواة (مثل المفاعل البرجى، المفاعل المقلب بالهواء). - المفاعل ذو الطبقة المرفوعة fluidized bed. - المفاعل ذو الطبقات المغمورة trickled bed.	- إنتاج البيرة - الكتلة الحيوية - الخل- منشطات الدم النباتية. - الإنتاج المستمر للبيرة وإنتاج السيدر. - معالجة مياه الصرف وإنتاج الخل.

المصدر : Ward (1989) .

22 - 4 - 1 المفاعلات الحيوية ذات الحشوات الداخلية :

Packed-bed bioreactors

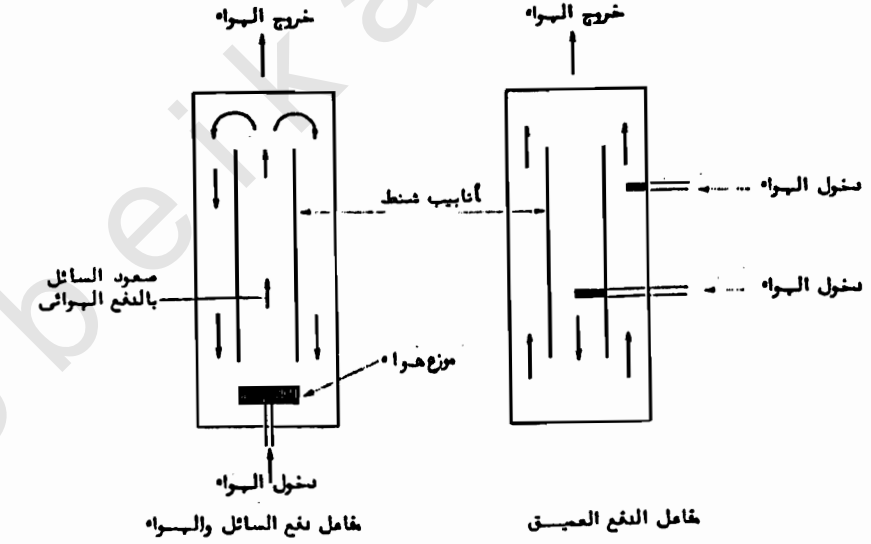
تعمل المفاعلات الحيوية ذات الحشوات الداخلية تحت الضغط الجوى العادى، حيث يتم توزيع البيئة المغذية على الحشوات الداخلية بواسطة وسيلة توزيع ويتكون هذا النوع من المفاعلات من أعمدة (أبراج) يوجد بداخلها جزئيات تعمل كمواد مساعدة محملة وتستخدم حالياً فى عمليات إنتاج المشابهات الضوئية للجلوكوز وعمليات التحلل الأختيارى للبنسلين وعمليات الفصل الإختيارى التفاعلى لمخاليط الأحماض الأمينية الراسيمية. وتستخدم نظم خلوية محملة عديدة كمواد حاشية فى هذا النوع من المفاعلات كما أن أفضل طريقة لتشغيل

هذه المفاعلات هو تشغيلها بطريقة السريان المخروطى plug - flow للبيئة حيث يتم دفع البيئة السائلة من قاعدة المفاعل إلى قمته مما يؤدى إلى تدرج فى كل من تركيز البيئة والمنتج المطلوب ومن عيوب هذه المفاعلات هو صعوبة إمدادها بالتهوية الفعالة الكاملة وضبط التحكم فى رقم الـ pH.

المفاعل الحيوى العمودى ذو الفقاقيع الهوائية :

bubble - column bioreactors

ينتمى لهذا النوع من المفاعلات جميع المفاعلات التى يندفع خلالها الهواء المضغوط من قاعدة المفاعل خلال السائل محدثاً فقاقيع هوائية إضطرابية به. وأجد الأنواع الحديثة لهذه المفاعلات هو المفاعل المعروف بإسم مفاعل دفع السائل بالهواء air - lift reactor حيث يؤدى قوة وضغط الهواء المدفوع إلى رفع السائل ودفعة إلى السريان لأعلى خلال جسم المفاعل حيث يتم إعادة تدويرة بواسطة مواسير جانبية خارجية على جانبى العمود الرئيسى للخمر، وهذه الطريقة تؤدى إلى زيادة كفاءة التبادل الحرارى ورفع كفاءة السريان والخلط داخل وعاء المفاعل. ويحتاج هذا النوع من المفاعلات إلى خمس الطاقة المستخدمة فى التقليب الميكانيكى للمفاعلات التقليدية. وكما هو موضح فى الشكل رقم (22 - 5) فإنه



شكل رقم 22 - 5 : نموذج لمفاعلين حيويين

المصدر : Ward (1989) .

يتم دفع الهواء من قاعدة المفاعل بسرعة عالية بواسطة أقراص توزيع مثقبة، كما يؤدى وجود المسارات الجانبية المسماه بأنابيب الشفط draught tube إلى دفع السائل لأسفل تحت ظروف اضطرابية لإعادة تدويرة مرة أخرى، ولضمان التوزيع الأمثل للأكسجين فإنه يجب أن يكون أرتفاع المفاعل كافيا وأكبر من إرتفاع المفاعلات التقليدية المقلبة ميكانيكياً (عادة تكون نسبة أرتفاع المفاعل إلى القطر10 : 1) . وأثناء صعود الفقاعات الهوائية الغازية خلال المفاعل فإن تركيز الأكسجين بها يتناقص مما يؤدى إلى انخفاض معدل أنتقال الأكسجين للبيئة . كما أن هناك نوعاً آخر من هذه المفاعلات أطلق عليه أسم مفاعل الدفع العميق deep Shaft reactor - وصمم للتغلب على مشاكل توزيع الهواء فى مفاعل دفع السائل بالهوء السابق حيث أنه يتم دفع الهواء من موضعين (بدلاً من موضع واحد فى القاعدة) أحدهما فى النصف الأسفل من لأنبوبة الوسطية ويعمل على دفع السائل لأسفل بينما يكون الآخر فى النصف العلوى للأنبوبة الجانبية حيث يدفع السائل لأعلى لكى يسقط خلال الأنبوبة الوسطية كما هو موضح فى الشكل رقم 22 - 5 .

ويمكن تشغيل كلاً المفاعلين بطريقة التشغيل المستمر، ويكثر استخدامها فى الصناعات الكيماوية وفى الصناعات البيولوجية كما أنها تستخدم بكثرة فى صناعة البيرة والخل والبروتين وحيد الخلية.

22 - 4 - 2 مفاعلات الطبقة المرفوعة : Fluidized - bed reactors

تتشابه مفاعلات الطبقة المرفوعة فى شكلها الخارجى مع المفاعلات ذات الفقاقيع الهوائية ولكنها تختلف عنها تماماً فى التركيب الداخلى وفى طريقة التشغيل. حيث يستخدم فى هذه المفاعلات جزيئات غير متجانسة تعمل على المساعدة فى إتمام التفاعل الحيوى وقد تكون عبارة عن تكتلات متماسكة من خلايا الأحياء الدقيقة ذاتها أو أقراص الإنزيمات أو الخلايا المحملة حيث تُعلق هذه الجزيئات خلال المفاعل بواسطة قوة الدفع التى تحدثها البيئة السائلة المتدفقة ومع التحكم فى ظروف التشغيل فإنه يمكن المحافظة على بقاء هذه الجزيئات داخل المفاعل دون أن تغادره مع السائل بحيث يستمر سريان البيئة السائلة خلال هذه الجزيئات بطريقة مستمرة.

22 - 4 - 3 مفاعلات الطبقة المغمورة : Trickle - bed reactors

مفاعلات الطبقة المغمورة تتكون من طبقة تحتوى على حشوات تعمل كمواد مساعدة مختلطة ، وغاز مندفع من أسفل لأعلى، بيئة سائلة. ومن مزايا هذه المفاعلات هو إمكانية دفع الغاز وتوزيع السائل بكفاءة عالية خلال الحشوات التى تتأثر بالتالى بطبيعة سريان كل من الغاز والسائل خلالها وأول إستخدام لهذا النوع من المفاعلات هو استخدامه كمرشح حيوى فى عمليات معالجة مياه المجارى كما استخدمت نظم مشابهة فى عمليات الأكسدة الحيوية للكحول لإنتاج حمض الخليك.

22 - 4 - 4 مفاعلات الإنزيمات أو الخلايا المحملة :

Reactors for immobilized enzymes or cells

تعتبر المفاعلات الحيوية التى تستخدم الإنزيمات أو الخلايا المحملة من المفاعلات الحديثة حيث تستخدم الإنزيمات أو الخلايا أو الأنسجة العضوية كمواد محملة مساعدة للتفاعل بحيث يمكن إعادة إستخدام هذه المواد بطريقة مستمرة. وتستخدم تقنيات فيزيائية وكيميائية لتحميل الإنزيمات أو الخلايا وتعتبر الطرق الفيزيائية أقل تكلفة.

والأسباب التى تؤدى إلى عمليات التحميل تتلخص فيما يلى : -

أولاً - عند وجود الإنزيمات فى المحاليل فإن جزءاً من هذه الإنزيمات يترك المفاعل مع خروج المنتج النهائى مما يتطلب إمداد المفاعل بكميات جديدة من الإنزيمات لتعويض الجزء المفقود وفى نفس الوقت يجب التخلص من الإنزيمات المتواجدة مع المنتج النهائى لأنها تمثل شوائب مصاحبة له غير مرغوبة.

ثانياً - تحتفظ الإنزيمات المحملة بنشاطها لفترة أطول من المحاليل الإنزيمية حيث أن معظم الإنزيمات تكون غير ثابتة تحت ظروف التشغيل العادية وفترة صلاحيتها فى حالة نشطة تعتبر قصيرة.

ثالثاً - يمكن وضع الإنزيم المحمل فى مكان قريب جداً من إنزيمات أخرى مشاركة فى سلسلة التفاعلات التحليلية مما يؤدى بالتالى إلى رفع كفاءة التحلل لعمليات التحول المركبة.

إن تكاليف فصل وتنقية الإنزيمات المتكونة داخل الخلايا الميكروبية intracellular enzymes عالية بحيث يصبح إستخدامها غير إقتصادى لعمليات الإنتاج التجارية لذلك يجب أن يكون هناك إتزان بين تكاليف إنتاج الإنزيمات المعزولة والعائد الإقتصادى المستفاد منها طبقاً لطبيعة العملية الإنتاجية التى تقوم بها. وتتميز الإنزيمات المعزولة بإرتفاع درجة نقاوتها مما يساعدها على رفع كفاءة عملية التحول التى تساهم فيها هذه الإنزيمات كما أن المنتج النهائى المطلوب يكون أكثر نقاوة وخالى من المواد الغريبة المصاحبة. ويمكن اللجوء إلى عملية تحميل الخلايا الكاملة عندما يكون الإنزيم المستخلص أقل ثباتاً. وهناك عديد من العمليات الصناعية المستمرة عديدة التفاعلات الإنزيمية تتم بإستخدام نظم تحميل الخلايا الميكروبية الكاملة. وتتميز الخلايا الميكروبية المحملة بإنخفاض درجة نفاذية جدر الخلايا ولكن وجود أنواع عديدة من الإنزيمات داخل الخلية الميكروبية قد يؤدى إلى حدوث تفاعلات جانبية ولكن يمكن التغلب على هذه المشكلة بحيث يستفاد من النظم الإنزيمية الموجودة داخل الخلية الميكروبية بأقصى كفاءة ممكنة.

ويفضل إستخدام نظام التحميل بالخلايا الكاملة فى الحالات الآتية: -

أولاً: عندما يوجد الإنزيم داخل الخلية ولا يفرز خارجها.

ثانياً : عندما يكون الإنزيم المستخلص من داخل الخلية أقل ثباتاً أثناء وبعد عمليات التحميل.

ثالثاً : عندما لا يحتوى الميكروب على إنزيمات أخرى متداخلة (أو فى حالة إمكانية تثبيط نشاط الإنزيمات الأخرى المتداخلة).

رابعاً : عندما يكون كل من مادة التفاعل Substrate والمنتج النهائى مواد ذات وزن جزيئى منخفض.

ويمكن تلخيص أهم مزايا استخدام نظم الخلايا الميكروبية المحملة:

1- إعادة إستخدام الخلايا مما يسمح بأتباع طرق تشغيل مستمرة.

2- خفض تكاليف الإنتاج.

3- عدم ضرورة إستخلاص الإنزيمات وتنقيتها.

4- المحافظة على نشاط الإنزيم وتقليل حساسية الإنزيم للتغيير فى ظروف التشغيل.

5- إمكانية إستخدام النظم عديدة الإنزيمات التى تحتاج إلى إنزيمات وعوامل مساعدة عديدة.

6- إمكانية إستخدامها فى عديد من التطبيقات الحيوية والطبية الحديثة.

7- تقليل مشاكل التلوث فى المصانع الإنتاجية كنتيجة لإتباع طرق الإنتاج المستمرة (وخصوصاً للمصانع ذات الحجم الإنتاجى الصغير).

ولا توجد طريقة مثالية محددة تستخدم لتحميل الإنزيمات أو الخلايا الميكروبية الكاملة. لذلك يجب حسن أختيار طريقة وظروف التحميل لكل نظام إنتاجى، كما يجب الأخذ فى الأعتبار درجة سمية المواد المستخدمة للتحميل وكذلك طريقة التخلص من مواد التحميل العادية.

ومن عيوب عملية تحميل الخلايا الكاملة هو مقاومة كل من جدار الخلية والغشاء الخلوى لإنتقال كل من مادة التفاعل والمنتج النهائى. وتوجد حالياً طريقة للتحميل المشترك لكل من الإنزيم والخلية الكاملة وتتلخص هذه الطريقة فى إعادة إسترجاع الخلايا من الوسط المائى مع جزء من الإنزيم الحر ثم يحول هذا المعلق إلى الحالة الجيلية بإستخدام أيونات الكالسيوم مع الألجينات بأستخدام كل من Carbo - di - imides أو glutaraldehyde. كما يمكن تحويل الخلايا الكاملة المحملة إلى خلايا منفذة بواسطة الإنزيمات المحللة أو الكحولات أو بإستخدام dimethyl sulfoxide، وعموماً توجد طريقتان رئيسيتان للتحميل:

1- الطريقة التى تكون فيها المادة المساعدة catalyst مرتبطة مع المادة الحاملة بواسطة الإرتباط الإدمصاصى أو التساهمى.

2- الطريقة الثانية التى يكون الإنزيم أو الخلية الكاملة محصوراً داخل بناء شبكى matrix أو غشاء (كبسولة) تحصر بداخلها الإنزيم أو الخلايا (طريقة المصيدة).

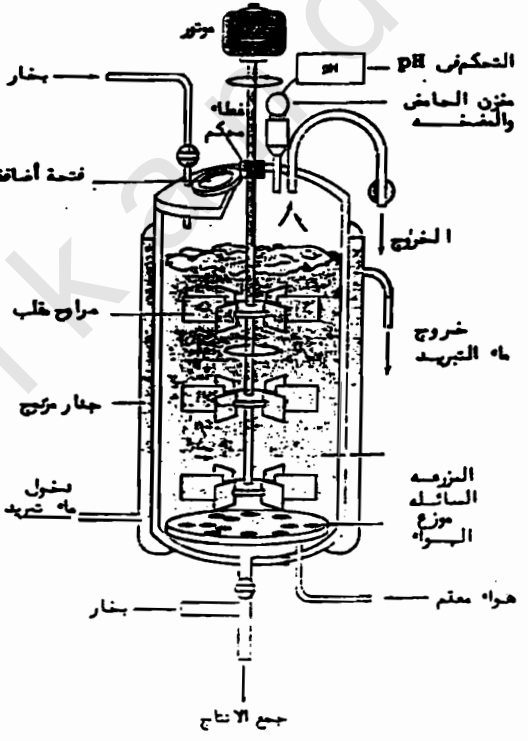
22 - 4 - 4 تركيب المخمر الهوائى : Construction of aerobic fermentor

يسمى الوعاء الذى تجرى فيه عمليات التخمر فى الصناعة بإسم المخمر Fermentor ، وتتنوع المخمرات فى الحجم، فهناك المخمر المعملى وسعته 5 - 10 لتر والمخمر الصناعى الكبير والذى تصل سعته إلى 500.000 لتر (500متراً مكعباً). ويتوقف حجم المخمر المستخدم على نوع العملية ذاتها والكيفية التى تتم بها. فالعمليات التى تتم بنظام الدفعات

تحتاج إلى مخمرات ذات حجم أكبر مقارنة بالعمليات التى تتم بنظام التشغيل المستمر أو شبه المستمر.

ويمكن تقسيم المخمرات الصناعية إلى مجموعتين رئيسيتين: المجموعة المستخدمة للعمليات اللاهوائية والمجموعة المستخدمة للعمليات الهوائية فالمخمر اللاهوائى لا يحتاج إلى تجهيزات كثيرة بأستثناء التجهيزات الخاصة بإزالة الحرارة المتولدة أثناء التخمر، بينما تحتاج المخمرات الهوائية إلى تجهيزات متخصصة عديدة ونظراً لأن أغلب عمليات التخمر تتم هوائياً فسوف نتناول هنا بالتفصيل شرحاً لتركيب هذا النوع من المخمرات.

تُصنع المخمرات الصناعية ذات الحجم الإنتاجى الكبير عادة من الصلب غير القابل للصدأ وهو على شكل أسطوانى كبير مُقفل من القاعدة والقمة ومزود بأنابيب وصمامات كما هو موضح بالشكل رقم 22 - 6. ونظراً لأن عمليات تعقيم البيئة السائلة وإزالة الحرارة المتولدة



شكل رقم22 - 6 : الشكل الداخلى لمخمر صناعى موضحاً به نظم التقليب وملفات التبريد والتسخين

المصدر : Brock, *et. al.* (1994).

تعتبر ذات أهمية حيوية للتشغيل الناجح فإن المخمر يزود عادة بجدار مزدوج خارجى للتبريد حيث يمرر خلاله ماء التبريد أو بخار للتسخين حسب الحاجة. وبالنسبة للمخمرات ذات الحجم الإنتاجى الكبير فإن عمليات التبادل الحرارى خلال الجدار الخارجى المزدوج لا تعتبر كافية لذلك يزود المخمر بملفات (مواسير) داخلية internal coils يمر خلالها ماء التبريد أو بخار التسخين، ويعتبر نظام التهوية aeration system أحد الأجزاء المهمة – وتمثل عملية إنتقال الأكسجين من الوسط الغازى إلى البيئة السائلة مشكلة كبيرة خصوصاً بالنسبة للمخمرات ذات السعة الكبيرة مما يتطلب إتخاذ احتياطات لضمان التهوية الجيدة. وغاز الأكسجين صعب الذوبان فى الماء كما أن المخمرات التى تعمل لغرض التكاثر المكثف للميكروبات تحتاج إلى كميات هائلة من الأكسجين لدفعها إلى البيئة. وتستخدم وسيلتان مستقلتان لإمداد البيئة بالتهوية اللازمة. وسيلة التهوية الأولى هى موزع الهواء الدائرى Sparger والوسيلة الثانية هى وسيلة التقليب والمعروفة بإسم مقلبات بها سكاكين على شكل مراوح impeller كما هو موضح فى شكل رقم 22 - 6. وموزع الهواء الدائرى Sparger عبارة عن قرص معدنى مزود بسلسلة من الثقوب أو عبارة عن نافورة نفاثة حيث يدفع خلالها الهواء المضغوط إلى داخل المخمر. ويدخل الهواء إلى البيئة السائلة فى المخمر على هيئة سلسلة من الفقاقيع الهوائية الدقيقة حيث ينتقل من خلالها الأكسجين إلى كتلة السائل بواسطة الإنتشار diffusion ، ووحدة توزيع الهواء الدائرى الجيدة هى التى تنتج فقاعات ذات حجم صغير جداً بحيث تضمن التوزيع السريع للهواء داخل السائل بطريقة الإنتشار.

وبالنسبة للمخمرات ذات الحجم الصغير فإن توزيع الهواء بإستخدام موزع الهواء الدائرى يعتبر كافياً لضمان التهوية الجيدة ولكن المخمرات ذات الحجم الإنتاجى الكبير يعتبر تقليب البيئة بواسطة المراوح ضرورة هامة شكل رقم 22 - 6. ووظيفة التقليب الميكانيكى stirring هى :

أولاً: خلط الأحياء الدقيقة خلال البيئة السائلة مما يضمن حصول الخلايا الميكروبية على احتياجاتها الغذائية بطريقة متماثلة.

ثانياً : خلط فقاعات الغاز وتوزيعها توزيعاً متماثلاً خلال البيئة السائلة.

وأحد أنواع المقلبات الشائعة الإستخدام هو المراوح ذات الحدافات (الأذرع) المسطحة أو ذات القرص المسطح وتثبت من المنتصف فى عامود الإدارة المركزى والذى يدور بسرعة عالية بواسطة ذراع توصيل (عامود إدارة) لموتور كهربائى. ولضمان كفاءة التقليب بواسطة المراوح فإن جسم المخمر يزود من الداخل بواسطة حواجز طويلة تعرف بالـ baffles مثبتة على محيط السطح الداخلى للخمر. وعند تقليب السائل بواسطة المراوح فإنه يصطدم بالحواجز الطولية وتتكسر كتلة السائل إلى جزيئات صغيرة patches. وتعتبر طبيعة سريان السائل داخل المخمر من الأمور المعقدة ولكن يجب على مهندس الصناعات الميكروبية أن يستوعبها جيداً نظراً لأن التصميم والتشغيل الأمثل للمخمر يعتمد أساساً على الخلط الجيد، ويتصل المقلب الذى يحرك المراوح بالموتور عن طريق ذراع توصيل (ذراع الموتور) يخترق قمة المخمر أو قاعدته (حسب التصميم) من الخارج إلى الداخل. وتسمى المنطقة التى يخترقها هذا الذراع بإسم منطقة صندوق الحشو أو seal ، ونظراً لخطورة هذه المنطقة على التلوث الخارجى للبيئة داخل المخمر فإنها يجب أن تكون معقمة بوسيلة خاصة طوال فترة التشغيل لضمان سلامة وأمان المخمر.

22 - 4 - 5 مراقبة عمليات التشغيل والتحكم فيها :

Process control and monitoring

يجب مراقبة أى عملية تصنيعية ميكروبية لضمان أن كل خطوات التشغيل تتم بالصورة المُرضية كما أن المخمرات الصناعية يجب مراقبتها بدرجة كافية نظراً للتكاليف المرتفعة الخاصة بالعمليات الإنتاجية . ولا يُكتفى فقط بضرورة قياس معدلات النمو الميكروبى ومعدلات تكون المنتج النهائى ولكن يجب التحكم فى كل العملية الإنتاجية بتغيير الظروف البيئية حسب متطلبات العملية أثناء فترة التشغيل. وتشمل الظروف البيئية التى يجب التحكم فيها ومراقبتها كل من تركيز الأكسجين وقيمة الأس الهيدروجينى والكتلة الحيوية وتركيز المنتج النهائى. كما يجب فى كثير من الأحوال ضرورة التحكم فى كمية الرغوة foaming المتكونة داخل المخمر والتحكم فى درجة الحرارة (إما بالتبرد أو بالتسخين حسب طبيعة عملية الإنتاج) . وللكمبيوتر دور هام فى التحكم فى عمليات التخمر الصناعية . ويستخدم الكمبيوتر لأداء مهمتين رئيسيتين هما:-

أ- تجميع البيانات أثناء التشغيل data acquisition والتى تعكس صور التحولات والتغيرات التى تحدث أثناء عملية التخمر.

ب – التحكم control فى العوامل البيئية المختلفة التى يجب ضبطها أو تغييرها أثناء العملية الإنتاجية. وفى المخمرات الصناعية الكبيرة فإنه يجب تجميع وتسجيل البيانات أثناء مرحلة النمو ومرحلة تكوين المنتج وذلك لضمان التشغيل الأمثل للعملية الإنتاجية.

ويطلق على تجميع البيانات وتسجيلها المستمر بهذه الصورة أثناء عمليات الإنتاج إصطلاح التجميع اللحظى المستمر on-line acquisition وتزداد القيمة العلمية لهذه البيانات عندما يتم معالجتها بواسطة الكمبيوتر. ويتمثل الإستخدام الأكثر تكاملاً للكمبيوتر عند إستخدامه فى عمليات التحكم اللحظى المستمر on-line control لعناصر عملية التخمر، فعلى سبيل المثال فإنه قد يكون من المرغوب فيه إحداث تغير فى أحد عناصر الظروف البيئية بعد فترة معينة من بدء تشغيل المخمر أو يكون من المرغوب تزويد المخمر بالبيئة بمعدلات تتوازن تماماً مع معدلات النمو الميكروبى لذلك فإن إستخدام الكمبيوتر يسهل من إتمام هذه العمليات. كما أن الكمبيوتر يمكن أن يستخدم لمعالجة وتشغيل البيانات الخاصة بقياس معدلات النمو الميكروبى. ولتقدير متى وكيف يتم الإمداد بكميات إضافية من البيئة (وذلك بإستخدام البيانات المعطاة للكمبيوتر مسبقاً من القائمين بالتشغيل). ففى مثل هذه الحالة يتم إمداد المخمر بالبيئة فى التوقيت المناسب مما يضمن تفادى إنحراف تركيز مكونات البيئة وضمان التوصل إلى المنتج النهائى المستهدف وليس منتج آخر غير مرغوب. وأخيراً يمكن إستخدام الكمبيوتر لنمذجة modelling عمليات التخمر. وفى هذه الحالة يتم التوصل إلى نموذج رياضى لتوصيف العملية الإنتاجية وهو نموذج يشمل معادلات لتوصيف وحساب معدل النمو الميكروبى ومعدلات تكوين المنتج. وفائدة إستخدام الكمبيوتر فى نمذجة عمليات التخمر تتمثل فى أن الباحثين يمكنهم أختبار دور العوامل المختلفة المؤثرة على النمو وتكوين المنتج فى وقت سريع وبصورة يظهر فيها تأثير العوامل المتداخلة وبالتالى يمكن إحداث تعديلات فى هذه العوامل للتنبؤ بما يمكن أن تحدثه من تغيير فى مسار العملية الإنتاجية . وبهذه الطريقة يمكن دراسة كثير من العوامل المؤثرة على عملية التخمر بتكاليف منخفضة على النماذج بإستخدام الكمبيوتر بدلاً من دراستها بتكاليف باهظة فى المخمر

المعملى أو المخمر الصناعى الكبير.

22 - 4 - 6 نقل النموذج المعملى لعملية التخمر إلى النطاق الصناعى :

Scale - up of the fermentation process

يعتبر نقل العملية الإنتاجية من النطاق المعملى الصغير إلى المجال الصناعى الكبير أحد المشاكل الهامة والمعقدة لعمليات التخمر الميكروبية وهى الخطوة التى يطلق عليها: نقل النموذج من المعمل إلى المصنع "scale up" ويجب أولاً فهم عناصر مشكلة نقل النموذج لأنه من النادر أن تسلك عملية تخمر ميكروبية على النطاق الصناعى الكبير نفس السلوك الذى إتبعته خلال التجارب بالأجهزة المعملية. ولكن السؤال الذى يطرح نفسه هنا هو لماذا يوجد أختلاف فى العملية التصنيعية الواحدة بين النطاق الصناعى الكبير والنموذج المعملى؟ والإجابة على ذلك نلخصها فى العوامل التالية:

أ- تداول المواد والخامات: يتم تداول الخامات والمواد وإضافتها يدويا فى أغلب الأحوال فى المخمر المعملى بينما يتم التداول والتغذية آليا فى المخمر الصناعى الكبير.

ب- إختلاف نمط الخلط والتهوية: فكلما زاد حجم المخمر تتغير النسبة بين المساحة السطحية / حجم المخمر (surfacs / volume) مما يغير من نمط إنتقال الغازات (الأكسجين) والحرارة والتى تعتمد على مساحة الأسطح المعرضة للخلط والتبادل، وأى خلل فى عمليات التهوية والتبريد يؤدى إلى تغير فى سلوك البيئة ويغير من كمية ونوع المنتج النهائى.

جـ - وجد فى كثير من الأحيان أن السلالات التى يثبت نجاحها معملياً فى صناعة ميكروبية معينة ليست بالضرورة هى نفس السلالة التى يمكن أن تنجح إذا استخدمت على نطاق صناعى كبير فعلى سبيل المثال قد تنتج سلالة معينة نوعاً من المركبات طويلة السلسلة (البوليمرات) الذى يؤدى إلى رفع لزوجة البيئة بدرجة عالية مما يؤثر بالتالى على كفاءة التهوية. وهنا يجب على متخصص الميكروبيولوجى أن يقوم بتطوير هذه السلالة بحيث لا تؤدى إلى رفع لزوجة البيئة بدرجة كبيرة حتى يمكن تطبيقها صناعياً. ويجب إتباع الخطوات التالية عند نقل أى عملية تخمرات ميكروبية من النموذج المعملى إلى النطاق

الصناعى.

1- إجراء تجارب معملية أولاً على مستوى الدورق الزجاجى للتأكد من إتمام هذه العملية.

2- النقل إلى المخمر المعملى وهو عبارة عن مخمر زجاجى صغير سعته بين5 - 10 لتر والذى تجرى فيه التجارب الخاصة بالمحاولات الأولى لنقل النموذج المعملى وفى هذا المخمر المعملى يمكن إختبار ودراسة تأثير كل من درجة الحرارة ورقم الحموضة والبيئة ومكوناتها وعوامل أخرى وذلك بتكاليف بسيطة.

3- مرحلة المخمر نصف الصناعى pilot plant stage وعادة تجرى هذه التجارب فى مخمر سعته من 300 - 3000 لتر حيث تتشابه ظروف التشغيل هنا لدرجة كبيرة مع ظروف تشغيل المخمر الصناعى الكبير ولكن تكلفة التشغيل تظل أقل بكثير من التكاليف التى يتطلبها تشغيل المخمر الصناعى. وفى المخمر نصف الصناعى يتم إستخدام أجهزة التحكم والكمبيوتر لتجربة كيفية تجميع وتشغيل البيانات حتى يمكن التوصل لظروف إنتاجية مثلى مشابهة لما تم فى النطاق المعملى الصغير.

4- النقل إلى المخمر الصناعى الكبير والذى تصل سعته من 10000 إلى 500000 لتر وعند نقل النموذج المعملى فى التخمرات الصناعية الهوائية إلى النموذج الصناعى الكبير وجد أنه يجب المحافظة على قيمة ثابتة لمعدل إنتقال الأكسجين (أى أن قيمة معدل إنتقال الأكسجين تكون هنا هى العامل المشترك بين المخمر الصغير والمخمر الكبير). فعلى سبيل المثال إذا كان معدل إنتقال الأكسجين اللازم للتوصل إلى أعلى قيمة للمنتج فى المخمر الصغير هو200 ملليمول أكسجين / لتر. ساعة فيجب أن تصمم وتضبط عمليات التهوية والتقليب فى المخمر الكبير للمحافظة على هذا المعدل.

وللتوصل العملى لذلك فإنه يجب زيادة سرعة التقليب وإستخدام ضغوط عالية للهواء. ونظراً لأن التقليب عملية ميكانيكية يمكن التعبير عنها بقيمة «قدرة حصانية» power فإن أحد عناصر عملية الإنتقال النموذجى المطبقة عملياً هو النقل بالمحافظة على قدرة حصانية ثابتة constant power لعملية التخمر (لكل وحدة حجم من البيئة) عند نقل النموذج المعملى الصغير إلى النطاق الصناعى الكبير.

22 - 5 إنتاج مزارع البادئات :

Producton of starter cultures

تعتبر مزارع البادئات الدعامة الرئيسية التى تقوم عليها الصناعات الميكروبية. وتستعمل الميكروبات فى هذا المجال بصور مختلفة فقد تضاف فى صورة مزرعة نقية مفردة أو مختلطة pure single or mixed culture وفى بعض الأحيان يكتفى بما يوجد على المواد الخام المراد تخميرها من ميكروبات مختلفة ومرغوبة وبعدد كافى للقيام بنفس التحولات المرغوبة كما هو الحال فى الخضروات المتخمرة (المخللات) والمشروبات المتخمرة (النبيذ) وغيرها من الصناعات المختلفة.

وتضاف المزارع النقية سواء كانت فى صورة مفردة أو مختلطة على شكل بادئات فى صناعات مختلفة مثل الألبان المتخمرة وبعض أنواع الزبد ومعظم أنواع الجبن ومنتجات الخبيز المختلفة والخل والعديد من الأغذية . ولأهمية دور الميكروبات فى الصناعات التخميرية فإنه من الجدير بالذكر معرفة طرق الحصول على هذه المزارع وإنتاجها وتحسينها وحفظها وتقييم كفائتها والحفاظ على نقاوتها ولضمان الحصول على صناعة جيدة قائمة على أساس سليم فيجب مراعاة مايلى:

أولاً : إختيار وإنتقاء السلالات الميكروبية:

تعتبر هذه الخطوة الدعامة الأساسية التى يتوقف عليها كفاءة الإنتاج ودرجة جودته عند تطبيق الظروف المثلى للتصنيع ولذا يجب أن يتوافر فى الميكروبات المستخدمة فى التصنيع الميكروبى أهم الصفات الآتية:

- أن تكون ذات قدرة ثبات عالية.
- تنمو فى الوسط الحامضى.
- تتحمل درجات الحرارة المرتفعة.
- لها القدرة على إنتاج مواد مثبطة لنمو الميكروبات الأخرى.
- تكون ثابتة ومستقرة جينياً وقابلة للحفظ لمدة طويلة.

obeikandl.com

– ذات معدل نمو عالى high rate of growth وذلك فى حالة إنتاج نمو ميكروبى.

– تنتج نواتج مرغوبة وفى أقصر وقت ويفضل ناتج واحد ليسهل إسترجاعه.

– يفضل عدم وجود نواتج ثانوية سامة غير مرغوبة.

– يجب أن تكون السلالات المستخدمة ذات قدرة عالية على الإستفادة من المواد الخام المتوفرة وأن تكون درجة احتياجها من عوامل النمو قليلة بقدر الإمكان حتى لا تكون عملية الإنتاج عملية مكلفة.

ويتم الحصول على المزارع الميكروبية النقية المستخدمة فى الصناعة إما بالعزل من بيئتها الطبيعية مثل (التربة – البحيرات – الأنهار – النباتات – المواد الخام المستخدمة فى الإنتاج مثل المولاس والهيدروكربونات وغيرها ...).

كذلك يمكن الحصول على المزارع الميكروبية من عدة مصادر متخصصة فى حفظ المزارع الميكروبية مثل:

1- American Type Culture Collection, Rockville, Maryland, USA "ATCC".

2- Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK "CMI".

3- Centraalbureau Voor Schimmelculturen, Netherlands "CBS".

4- Institute for fermentation, Osaka, Japan "IFO".

5- Deutsche Sammlung von Mikroorganismen, Germany, "DSM".

6- Northern Regional Research Laboratory, Peoria, IL, USA "NRRL".

7- Fermentation Research Institute, Tokyo, Japan "FERM".

8- USSR Research Institute for Antibiotics, Mosco, USSR, "RIA".

وبالرغم من إختيار السلالة المناسبة ذات المواصفات المطلوبة إلا أن علم الوراثة قد تدخل فى زيادة تحسين هذه السلالات أو أستنباط سلالات جديدة تفوق السلالة الأصلية، فمنذ أواخر الثلاثينات استخدمت الطفرات كطريقة لتحسين السلالات فى عدة صناعات ميكروبية مثل إنتاج البنسلين . والأساس فى إنتاج الطفرات من الميكروبات عملية بسيطة

نسبياً وتستلزم تعريض الخلايا أو الجراثيم لفعل المطفرات سواء على الأطباق أو المزارع السائلة أو بطريقة تسمح بالإتصال المباشر بين المطفر والخلايا ويلاحظ أن هذه العملية عادة تقتل 99٪ من الخلايا المعرضة – ويمكن عزل الخلايا الحية المتبقية ويجرى لها نقل متتالى (تنشيط).

وتقع المطفرات المنتشرة والسهل الحصول عليها والمستخدمة بكثرة تحت مجموعتين أساسيتين: مطفرات كيماوية، مطفرات إشعاعية.

وتنشأ الطفرات عن طريق حدوث فقد أو إضافة قواعد فى الـDNA أو تغيير فى الأحماض النووية أو أن بعضها يرتبط بنائياً بقواعد الأحماض النووية ويرتبط فى أشرطة جديدة للأحماض النووية خلال التضاعف.

ومن أمثلة المواد الكيماوية المستخدمة فى إحداث الطفرات.

Nitrous acid - Ethyl Methanes Sulphonat (EMS) - Ethyl Ethane Sulphonat (EES) - Diethyl Sulphonat (DES) - N - Methyl - N-Nitrosoguanidine (N. T. G) - Acridine compounds - Base analgues (5 bromouracil - 2 aminopurne).

وقد طورت نظم إحداث الطفرات بإستعمال أشعة X ، أشعة γ والأشعة النيترونية والأشعة فوق البنفسيجية (طولها الموجى بين 200 - 300 نانوميتر).

وإستعمال الإندماج الوراثى (shperoplast fusion) أو التهجين فى الميكروبات يكون ذو قيمة فى إنتاج سلالات جديدة لها أهمية صناعية مثل التهجين فى الفطريات والخمائر. أما البكتريا فيمكن تغيير الصفات الوراثية لها بالأستقطاع (النقل بالفاج transduction) أو بالتحول الوراثى transformation أو بالتزاوج conjugation . كما أمكن حديثاً تحسين صفات وإنتاج السلالات المستخدمة فى الصناعات الميكروبية (حيث تم زيادة إنتاج بعض السلالات من مادة معينة ومرغوبة وإزالة أو عدم إنتاج المواد غير المرغوبة) وذلك بإستخدام الهندسة الوراثية حيث تم نقل الجينات المسئولة عن صفة معينة من ميكروب إلى ميكروب آخر أو إبطال عمل الجين المسؤل عن إنتاج مركبات غير مرغوبة ويتم تحميل الجين المسئول عن هذه الصفة على ناقل للجينات vector وهو إما أن يكون بلازميد plasmid أو

فاج phage . ويتم نقل الجين المسئول عن الصفة المرغوبة إلى البلازميد أو الفاج بإستخدام إنزيمات القطعrestriction enzymes ثم لحامه بالبلازميد أو الفاج عن طريق ligases enzymes ثم يؤخذ الـ vector الحامل للصفة ويتم إدخاله للميكروب المطلوب تعديله وراثياً.

ثانياً : الحفاظ على المزارع الميكروبية: Maintenace of microbial cultures

تستخدم عدد من الطرق الأساسية للحفاظ على الكائنات الحية الدقيقة الهامة صناعياً من هذه الطرق:

– التجفيف على تربة أو رمل معقم أو بعض المواد الطبيعية مثل مسحوق الحبوب أو الذرة أو الأرز. أو الردة.

– التخزين على بيئة آجار أو بيئة سائلة مع التغطية بالزيوت المعدنية والحفظ مبرداً.

– إزالة الماء الحر من الخلايا أو الجراثيم بواسطة التجفيد Lyophilizalion وتخزين المنتج تحت تفريغ.

– تخزين الخلايا الخضرية أو الجراثيم فى النيتروجين السائل عند درجة حرارة تصل إلى – 196 °م.

ويتم إختبار المزارع بعد الحفظ وذلك بالتأكد من الحيوية والنقاوة والثبات والكفاءة الإنتاجية.

ثالثاً: تجهيز اللقاح: Inoculum preperation

لتقليل تعرض السلالة للتدهور إلى أدنى حد يجب أن تكون المزارع المحفوظة كمزارع أساسية master culture لغرض الإنتاج منتجة من خلية واحدة (مفردة) ومعزولة من السلالة الأم كما يلى :

السلالة الأصلية ← مرحلة التنشيط الأولى ← اعداد المزرعة

↓

اللقاح النهائى ← مرحلة اكثار اللقاح الأولى

(مزرعة مهتزة) (مزرعة مهتزة)

ويمثل إنتاج البادئ أو الـ biomass ذو فاعلية عالية ودرجة جودة ثابتة وبكمية كافية العامل الأساسى لنجاح عملية التخمير أو تكنولوجيا الصناعات الميكروبية. والتدرج فى إنتاج اللقاح حتى الوصول به إلى مخمر الإنتاج التجارى كما هو موضح فى التخطيط السابق له تأثير واضح على كفاءة ونجاح عملية الإنتاج.

ويمكن تدرج برتوكول التلقيح فى كل من الدوارق المهتزة والمخمر بعد الحصول على ظروف نمو ثابتة إعتماداً على التتابع التالى للوصول إلى الإنتاج الأمثل بنقل اللقاح فى المرحلة المناسبة من النمو بالإستعانة بمنحنى النمو أو منحنى معدل إنتاج منتج معين. ويستخدم ذلك فى تحديد نقطة نقل اللقاح إلى مخمرات الإنتاج.

مرحلة اعداد اللقاح الأولى ← 10% حجم / حجم ← مرحلة اعداد اللقاح الثانية ← 10% حجم / حجم ← مخمر الإنتاج

(مزرعة مهتزة) (مخمر)

22 - 6 المواد الخام اللازمة للصناعات الميكروبية :

Raw materials of microbial industries

يجب عند إختيار بيئة التخمير اللازمة لنمو الميكروب أن يتوافر ما يلى:

- مصدر للكربون.
- مصدر للنيتروجين مع مراعاة نسبة الكربون إلى النيتروجين C:N ratio. حيث يتوقف على هذه النسبة إتجاه الميكروب إلى النمو أو إنتاج منتج متخمر.
- ويجب ضبط قيمة الأس الأيدروجينى الـ(pH) للدرجة المناسبة للميكروب المستخدم.
- كما يجب أن يكون مصدر الكربون الموجود بالبيئة ذو قابلية للإستفادة منه بواسطة الميكروب المستخدم كذلك يجب أن يتوافر مصدر للأملاح المعدنية وعوامل النمو التى يحتاجها الميكروب.

وبصفة عامة يستخدم عديد من المواد الخام فى مجال الصناعات الميكروبية كمصدر

obeikandl.com

للكربون والطاقة ويعتمد إختيار المادة الخام بدرجة كبيرة على التكلفة الإنتاجية ودرجة جودة المنتج. ويجب أن يضع القائم بالإنتاج عدة أعتبارات عند إختيار هذه الخامات للصناعة المطلوبة نلخصها فيما يلى:

– أن تكون متوفرة بالبلد وبكميات كبيرة ورخيصة الثمن.

– أن تكون متوفرة على مدار السنة.

– أن يكون محتواها من الكربون مرتفع.

أن يكون مصدر الكربون بها ذو قابلية لإستفادة الميكروب المستخدم.

– أن تكون ذات درجة جودة عالية وبفضل أن تحتوى بجانب الكربون على نيتروجين والأملاح وعوامل النمو التى يحتاجها الميكروب بقدر الإمكان حتى نقلل من تكلفة التدعيم بهذه الخامات.

– أن تكون قريبة من مصنع التخمير بقدر الإمكان وذلك لتقليل التكلفة.

وتمثل مخلفات مصانع الأغذية والمخلفات الزراعية أهم خامات الصناعات الميكروبية بل تعتبر المصدر الرئيسى للكربون والطاقة كما أنها تعتبر العامل المشجع لقيام تلك الصناعات بغرض التخلص من هذه المخلفات والمساهمة فى الحفاظ على البيئة من التلوث بها من جهه وتقليل تكلفة التخلص منها من جهة أخرى وفى نفس الوقت إمكانية الأستفادة منها فى إنتاج منتجات جديدة ذات قيمة إقتصادية ومنخفضة التكلفة فى نفس الوقت.

ومن أمثلة الدول النامية التى أستخدمت المخلفات فى إنتاج منتجات عالية القيمة، الهند وباكستان حيث تم إستخدام المولاس والمواد السليولوزية – فى كلا البلدين – فى صناعات تخميرية مختلفة مثل إنتاج الإنزيمات ، بينما أستغلت نيجيريا مخلفات نبات الكاسافا فى إنتاج البروتين الميكروبى، وفى شيلى أستخدمت نواتج تقشير الفاكهة ومخلفات نبات الباباظ فى إنتاج بروتين ميكروبى أيضاً، وفى ماليزيا أستخدمت مخلفات مزارع ومصانع المطاط ومخلفات الصناعات القائمة على جوز الهند.

وفى مصر يوجد عديد من المخلفات الزراعية والصناعية التى أستغلت فى مجال

الصناعات الميكروبية مثل المولاس الذى أستخدم فى عديد من الصناعات التخميرية الهامة مثل إنتاج الكحول والخل والأسيتون وخميرة الخباز والإنزيمات والبروتين الميكروبى كذلك أستخدمت المخلفات السليولوزية وهذه عادة تكون فى صورة مخلفات لصناعات مختلفة مثل مخلف قصب السكر (المصاصة Bagasse) أو مخلفات زراعية مثل قش الأرز والقمح والشعير وقوالح الذرة وحطب القطن وكذلك مخلفات صناعة الورق من الخشب (sulphite liquor).

ولعل أهم تلك المخلفات تحت الظروف المصرية فى الوقت الحاضر هى المخلفات السليولوزية الناتجة من المزارع والتى تصل إلى ملايين الأطنان وقد كان الأستخدام الأساسى لها حتى عهد قريب هو أستخدامها كوقود فى الريف المصرى ويمثل ذلك فقد لثروة قومية وتلوث هائل للبيئة مع أخطار الحريق المتوقعة. ومع التقدم الحضارى الذى يسير فى مختلف نواحى الحياة فى مصر أصبح حسن إستخدام تلك المخلفات ضرورة حتمية ولكن يواجه هذا الإستخدام عدد من التحديات أهمها ضخامة كمياتها والتكاليف الضخمة المطلوبة لجمعها ونقلها وتخزينها ثم تصنيعها.

ومعظم هذه المخلفات تكون غنية فى المواد العضوية مثل السليولوز (34.8–49.1 ٪)، الهيميسليولوز (21.8–22.6 ٪) واللجنين (8.1 – 21.8 ٪) وتعتبر تلك المركبات من أكثر المركبات مقاومة للتحلل البيولوجى بطبيعتها والمعاملات المتبعة للإستفادة من المخلفات السليولوزية فى الصناعات الميكروبية تشمل المعاملة المباشرة ويتم تطبيقها فى حالة إستخدام تلك المخلفات الزراعية بدون إجراء تحال لها وفى هذه الحالة يجب إستخدام ميكروبات لها القدرة على تحليل المواد السليولوزية أى إفراز إنزيم السليوليز مثل *Trichoderma reesii (T.viridae), Cellulomonas* sp. , *Sporotrichum pulverulentum.* أو سلالات محسنة وراثياً وإكتسبت القدرة على تحليل السليلوز.

أما الطريقة غير المباشرة: فيتم فيها إما معاملات طبيعية مثل إستخدام الطحن، الغليان، البخار تحت ضغط، أشعة جاما. أو معاملات كيماوية (مثل إستخدام الأحماض المخففة لحمض الهيدروكلوريك أو الكبريتيك. أو المعاملة بالإنزيمات مثل السيلوليز cellulases بهدف تحليل تلك المخلفات السليلولوزية إلى سكريات بسيطة يسهل الإستفادة منها بواسطة

الميكروبات المستخدمة فى التصنيع وذلك بعد تدعيمها بمصدر للنيتروجين والفوسفور . فمثلاً قوالح الذرة بعد تجفيفها وطحنها تعامل بحمض الكبرتنيك بنسبة 1: 10 ويعامل حرارياً على درجة 134 م (273.2ف) لمدة ساعة أما مصاصة القصب فتعامل بحمض كبرتيك 0.2ع على درجة127 م (260.6ف) لمدة1 ساعة بينما يعامل قش الأرز بواسطة حمض كبرتيك 0.2ع على درجة 134 م (273.2ف) لمدة 15 دقيقة.

ينتج من التصنيع الغذائى عديد من المخلفات وتزداد كمية تلك المخلفات مع زيادة معدل إنشاء مصانع الأغذية فى مصر فى ظل مجالات الأستثمار والعديد من هذه المخلفات تعتبر مصدرا جيدا للمواد العضوية اللازمة للصناعات التخميرية. وهناك العديد من أنواع المخلفات التى تنتج من خلال المراحل المختلفة للتصنيع الغذائى مثل التحضير والتصنيع والتوزيع والإستهلاك ، وقد تسبب هذه المخلفات مشاكل ضخمة فى مصانع الأغذية إذا لم يبادر المصنع بالتخلص منها أو معاملتها والأستفادة منها إذ قد يؤدى إلى حدوث تلوث للبيئة كما أنها تمثل فقد كبير فى المواد الغذائية والتى تمثل من 8 - 65 ٪ من الخامات المستخدمة فى التصنيع ومن أهم المخلفات التى تنتج فى مصر بكميات كبيرة من مصانع الأغذية المولاس – مخلف منقوع الذرة – مخلفات مصانع حفظ الأغذية (لب وبذور وقشور الخضر والفاكهة – شرش منتجات الألبان).

ويمثل المولاس الناتج من صناعة السكر من القصب أهم الخامات المستخدمة فى التصنيع الميكروبى وأكثرها إستعمالاً فى مصر بالإضافة إلى المولاس الناتج من البنجر. نظراً للتوسع فى زراعته حالياً فى مصر لإنتاج السكر منه بالإضافة إلى القصب مما يترتب عليه زيادة كمية المولاس الناتج منه سنوياً، وتصل كمية المولاس الناتجة من صناعة السكر إلى ما يزيد عن 280.000 طن / سنة ومن المتوقع تضاعف هذه الكمية بعد زيادة إنتاج السكر من البنجر وتقوم على المولاس صناعات عديدة مثل الكحولات المختلفة – الخميرة بأنواعها – أحماض عضوية وغيرها من الصناعات التخميرية – كما أن كمية كبيرة من المولاس تصدر للخارج وترجع أهمية إستخلاص المولاس ، وإستخدامه محلياً والإقبال عليه عالمياً أن المولاس المصرى غنى فى محتواه السكرى والعناصر الغذائية اللازمة للنمو الميكروبى بالإضافة إلى أنه يحتاج إلى معاملات مبدئية بسيطة وغير مكلفة. ويختلف التركيب الكيماوى والصفات الطبيعية للمولاس تبعاً لعدة إعتبارات: صنف القصب أو البنجر المستخدم

فى الزراعة – العوامل المناخية خلال موسم الزراعة – العوامل الزراعية مثل نوع التربة والتسميد – المعاملات بعد الحصاد – العمليات التصنيعية التى تجرى أثناء صناعة السكر.

ويوجد من مولاس القصب ثلاث أنواع :

High taste molasses وهو عبارة عن الناتج المركز بعد تبخير عصير القصب والمحتوى على جميع مكونات العصير الأصلية ويوجد معظم السكر فى الصورة المحولة نتيجة لعملية التسخين فى وجود الحمض وتصل نسبة السكريات الكلية به إلى78 ٪. منها حوالى 38.5 ٪ سكروز والباقى سكر محول وهذا النوع إستخدامه مكلف ولو أن بعض البلاد الأخرى تستخدمه فى بعض الصناعات التخميرية عالية القيمة الإقتصادية.

Black strap molassesوهو عبارة عن السائل الأسود الناتج من عملية الطرد المركزى الأولى لبلورات السكر من العصير المركز ويحتوى على 48 - 50 ٪ سكريات كلية منها حوالى 35 ٪ سكروز.

Refinary molassesوهو السائل المنفصل بعد إعادة بلورة السكر المتبلور وهذا بالطبع أقل قيمة من الصنف السابق لإنخفاض محتواه من السكريات والمكونات الأخرى.

أما مولاس البنجر Beet molasses فيحتوى على 50-53 ٪ سكريات كلية معظمه فى صورة سكروز. ويحدث للمولاس فساد عند التخزين على درجات حرارة مرتفعة – لذلك تقدر نسبة المادة الجافة به كدليل على الجودة فإذا إنخفضت عن 75 ٪ فى حالة مولاس القصب، 65 ٪ فى حالة البنجر دل ذلك على أن هناك بعض العيوب فى المولاس مثل التلوث بالكائنات الحية الدقيقة أو أن محتواه عالى من الأحماض الطيارة أو وجود مواد ملونة ومواد أخرى مختلفة أو إرتفاع الحموضة.

ويعتبر السكروز هو المكون الرئيسى للمولاس والمحدد لسعره ويحتوى المولاس التجارى على 47 - 52 ٪ سكر وبالإضافة إلى السكروز توجد سكريات أخرى مثل الجلوكوز والفركتوز وهى جميعاً قابلة للتخمير بالإضافة إلى وجود الرافينوز بكميات مختلفة.

وبالرغم من أن المولاس يعتبر بصفة عامة مصدراً للسكر إلا أنه يحتوى على مواد أخرى قد تكون مفيدة لعملية التخمير مثل الأملاح والمعادن وبعض عوامل النمو والعناصر الدقيقة والنيتروجين. بالإضافة إلى وجود مواد ضارة للميكروبات المستخدمة فى عملية

التخمير والمنتج النهائى مثل وجود المواد الغروية والملونة وثانى أكسيد الكبريت والنترات والنيتريتات والفورفورال والأحماض الطيارة وغيرها من المواد. لذلك يجب أن يجرى على المولاس معاملات مبدئية قبل إستخدامه للتخلص من المواد غير المرغوب وجودها به وهذه المعاملات تختلف بإختلاف تركيب المولاس وإختلاف المنتج المراد إنتاجه.

22 - 7 إنتاج الكتلة الحيوية : Production of biomass

تنمى خلايا الأحياء الدقيقة فى المخمر لغرض إكثارها والحصول فى نهاية مرحلة التخمير على محصول كبير من الخلايا ويطلق على هذا الإنتاج biomass ويشترط فى هذا الإنتاج كغيره أن يتم تهيئة ظروف الإنتاج لتشجيع نمو الخلايا وكذلك زيادة معدل التكاثر لها أو بمعنى آخر خفض وقت التضاعف للخلايا، وتختلف ظروف الإنتاج بإختلاف نوع الكائن الحى الدقيق المستخدم والغرض من إنتاجه.

وتنمى الميكروبات المختلفة سواء فطر أو خميرة أو بكتريا للحصول على نمو عالى لعدة أغراض وهى كما يلى :

- إنتاج بادئات مختلفة تستخدم فى صناعات أخرى مثل الصناعات اللبنية المتخمرة والصناعات الكحولية .... إلخ وغيرها.
- إنتاج خميرة الخباز (مضغوطة - جافة نشطة - جافة نشطة لحظية).
- إستخدام الخلايا الناتجة كمصدر للبروتين (SCP).
- إستخدام الخلايا الناتجة كمصدر للدهون (SCO).
- استخلاص مكونات معينة من الخلايا الناتجة والمنماه لهذا الغرض مثل الفيتامينات - الأحماض الأمينية - الأحماض النووية .. وغيرها.

22 - 7 - 1 إنتاج الخميرة : Production of yeast

تقسم الخميرة على أساس نشاطها إلى :

(أ) الخميرة النشطة active yeast وهى الخميرة المستخدمة فى عمليات التخمير المختلفة وتسمى خميرة الخباز baker's yeast وتضم الخميرة المضغوطة والخميرة الجافة

النشطة والخميرة الجافة النشطة اللحظية instant active dry yeast حيث تختلف كل منهم فى درجة نشاطها ودرجة ثباتها وطريقة إستعمالها.

(ب) الخميرة غير النشطة Inactive yeast وهى خميرة جافة ليس لها القدرة على التخمير (خلايا غير حية) وهى تستخدم كمصدر للتغذية مثل البروتين وحيد الخلية SCP أو كمصدر للنكهة والفيتامينات مثل مستخلص الخميرة yeast extract.

أ- الخميرة النشطة (خميرة الخبـاز) : Active yeast (Baker's yeast)

إستخدمت الخميرة من مئات السنين فى صناعة الخبز والمشروبات الكحولية ولكن لم يبدأ إنتاجها على نطاق تجارى قبل سنة 1850 لصناعة الخبز وحتى هذا الوقت كان جزء من العجينة المتخمرة يستخدم كبادئ لتلقيح العجينة الجديدة. ثم إستعملت بعد ذلك فى القرن التاسع عشر كمادة رافعة leavening agent فى صناعة الخبز وأول ما أستخدمت كانت تنتج كمنتج ثانوى من صناعة البيرة والكحول ولم تلقى خميرة البيرة قبولاً فى هذا المجال نظراً لإدمصاص المواد المرة على الخلايا وإعطاءها طعم مر للخبز. ثم أجرى كثير من الأبحاث لإنتاج الخميرة كمنتج أساسى وأول ما أنتجت إستخدم مستخلص الحبوب والمولت مع خميرة قمية وأطلق على ذلك طريقة vienna process . ثم حدث تطور بعد ذلك أثناء الحرب العالمية الأولى وإستخدم فى هذا الوقت المولاس بدلاً من الحبوب مما سبب تطور هائل فى الإنتاج . ثم إستخدم بعد ذلك مخلف صناعة الورق أو النشا وغيرها من المخلفات طبقاً للبلد المنتج.

وينتج من خميرة الخباز سنوياً ما يفوق 1.8 مليون طن (تحتوى على 30 ٪ مواد صلبة) وتعتبر من أكبر صناعات التخمر على المستوى العالمى. وكل كيلو جرام من المولاس المحتوى على 480 جم سكر يعطى 950 جم خميرة تحتوى على 27٪ مواد صلبة. وتحتاج مرحلة إنتاج الخميرة فى المخمر إلى حوالى من 10 - 20 ساعة تصل فيها خلايا الخميرة إلى أعلى معدل إنتاج ثم يجرى لها فصل بالطرد المركزى من بيئة المولاس وتغسل بالماء للتخلص من مصدر الكربون ثم يعاد فصلها بالطرد المركزى مرة أخرى، والخميرة الناتجة ذات لون كريمى تحتوى على 18٪ مواد صلبة وتحفظ فى التنكات على درجة 2 - 4 °م

ويطلق عليها كريمة الخميرة yeast cream ويفضلها بعض الخبازين حيث تستخدم مباشرة أو يجرى عليها بعض المعاملات الأخرى للحصول على الصور الآتية:

1- الخميرة المضغوطة Compressed yeast

تعرف بأنها الناتج من كريمة الخميرة بعد خلطها مع بعض المواد المستحلبة وتعرض لعملية بثق تحت ضغط (Extruded) ثم ضغطها وإما أن تقطع فى صورة مكعبات بأحجام مختلفة ويطلق عليها cake yeast (CY) أو تكون فى صورة مغزولة ذات أحجام غير متجانسة من1 سم × 5-10سم ويطلق عليها cake crumbled yeast (CCY) وتعبأ فى عبوات من 25 - 50 رطل وكلاً منCCY, CY تكون سريعة التلف وتصل مدة حفظCY إلى 4 - 5 أسابيع أما الـ CCYفتصل إلى 3 - 4 أسابيع على درجة حرارة 2 - 7 م . وتعتبر الخميرة المضغوطة أكثر حيوية ونشاطاً بالمقارنة بالصور الأخرى من الخميرة النشطة.

2- الخميرة الجافة النشطة : Active dry yeast (ADY)

وهى خميرة جافة نشطة داكنة اللون قليلاً، مسامية ، لا تحتوى على أى مواد مالئة ويتم إنتاجها من سلالات منتخبة من *Saccharomyces cerevisiae* والتى تتحمل درجات حرارة التجفيف. ويبدأ إعدادها عن طريق البثق تحت ضغط extrusion للخميرة المضغوطة (CY) مع المواد المستحلبة والمواد المضادة للأكسدة ثم تحول إلى دقائق إسطوانية ثم تجفف لأكثر من 6 ساعات على درجة حرارة 25 - 45 م بإستخدام التجفيف المستمر على سيور تجفيف مستمرة continuous belt dryer شكل رقم 22 - 7 وتصل نسبة الرطوبة فى المنتج النهائى إلى 7.5 - 8.3 ٪ ويتميز هذا المنتج (ADY) بقوة ثبات أعلى من الخميرة المضغوطة حيث يحتفظ المنتج المعبأ بدون تفريغ بنشاطه لمدة ثلاثة أشهر على درجة حرارة الغرفة بينما تمتد هذه الفترة إلى سنة عند التعبئة فى جو من النيتروجين أو ثانى أكسيد الكربون أو تحت تفريغ. والصورة المتداول عليها هذا المنتج إما فى صورة مطحونة ground أو غير مطحونة unground والصورة الأولى تعبأ فى عبوات (علب معدنية أو زجاجية أو أكياس بلاستيك) مفرغة الهواء. وتسوق الصورة المطحونة للخميرة الجافة النشطة فى الأسواق للمستهلك أو إضافتها مع الخلطات الجافة التى تضاف للمخبوزات المختلفة. بينما تسوق الصورة غير المطحونة فى عبوات كرتون عادية نظراً لإرتفاع قوة ثبات هذه الصورة.

وقبل إضافة الخميرة الجافة النشطة للدقيق يجب إسترجاعها فى ماء دافئ درجة حرارته 43 °م لمدة 5 - 10 دقيقة ودرجة حرارة الماء تعتبر حرجة حيث أن إرتفاعها عن54 °م تقتل الخميرة بينما الماء البارد يحدث صدمة لخلايا الخميرة مسبباً فقد فى بعض المكونات المسؤلة عن نشاطها.

3- الخميرة الجافة النشطة اللحظية Instant active dry yeast (IADY)

وهى خميرة جافة نشطة تتكون من دقائق مسامية يتراوح حجمها من 0.2 - 0.5 ملليمتر فى القطر و 1 - 2 ملليمتر فى الطول وتنتج هذه الصورة من الخميرة من سلالة خاصة منتخبة من *S. cerevisiae* ويتشابه نظام إنتاج الـ IADY مع نظام إنتاج الـ ADY فيما عدا خطوة التجفيف حيث يحل نظام التجفيف بإستخدام مجففات الطبقة المرفوعة fluid bed dryer - محل نظام مجففات السيور شكل رقم (22-7) مع إستخدام درجات حرارة 149 -177 °م حيث يوضع فى الأعتبار درجة التبريد الناشئة من تبخير الرطوبة من الخميرة مما يؤدى إلى عدم رفع درجة حرارة خلايا الخميرة أكثر من 38 - 40 °م وعندها تصل درجة الرطوبة فى المنتج إلى 5٪ مع عدم فقد درجة النشاط الأمثل للمنتج. وتعامل الخميرة قبل التجفيف بمواد حماية مختلفة عبارة عن مواد مستحلبة مثل سوربيتان أحادى الإستيارات Sorbitan monostearate وذلك لتقليل الأضرار التى تحدث لخلايا الخميرة أثناء التجفيف بإستخدام درجات الحرارة المرتفعة لخفض المحتوى الرطوبى إلى 4 - 6٪ فى المنتج النهائى. ويتميز المنتج النهائى بإنخفاض كثافته وإرتفاع مساحة سطحها المعرض ودقة حجمه مما يؤدى إلى سرعة إسترجاع الخميرة بل قد يتم الإستغناء عن عملية الإسترجاع وتضاف مباشرة إلى الدقيق أو مخلوط العجين ويجب ملاحظة أن هذه المميزات المسؤلة عن سرعة الإسترجاع هى أيضاً المسؤلة عن عدم ثباتها أثناء التداول أو التخزين فى حالة عدم التعبئة تحت ظروف سليمة ودقيقة.

ويوضح شكل رقم 22 - 7 خطوات صناعة الصور المختلفة للخميرة المنتجة. وقد وجد أن الكفاءة التخميرية للخميرة الجافة تعادل 50٪ من الخميرة المضغوطة (على أساس الوزن الجاف لهما).

ب- الخميرة غير النشطة : Inactive yeast

هى عبارة عن كتلة خلايا الخميرة غير الحية، والناتجة عن المعاملة الحرارية لخلايا الخميرة الحية لوقف نشاطها، ثم تجفف وتطحن وتعبأ فى عبوات مناسبة وأول ما استخدم منتج الخميرة غير النشطة فى التغذية وكمصدر للنكهة كانت تؤخذ كمنتج ثانوى لعمليات إنتاج المشروبات المتخمرة Brewing yeast أو من إنتاج الكحول. ثم أنتجت بعد ذلك كمنتج أولى Primary product لغرض استخدامها فى تغذية الحيوان أو الإنسانfeed or food yeast أو لاستخلاص بعض المكونات الحيوية الهامة منها مثل المواد المكسبة للنكهة والطعم لاستخدامها فى التصنيع الغذائى أو لاستخلاص الأحماض الأمينية والفيتامينات . وتتلخص أم هذه المنتجات فيما يلى :

مشتقات الخميرة yeast derivatives :

عبارة عن المنتجات المشتقة من الخميرة الجافة الناتجة من الكتلة الحيوية سواء كانت منتج ثانوى لإنتاج البيرة أو الكحول أو تلك التى تعتبر منتج أولى، كما سبق القول ، ثم يتم عليها عمليات التحلل الذاتى autolysates أو الاستخلاص extraction لاستخلاص المكونات الكيموحيوية منها .

ناتج تحلل خلايا الخميرة yeast autolysates :

تنتج من الهضم الذاتى لخلايا الخميرة بواسطة الانزيمات الداخلية للخلايا (الانزيمات المحللة للبروتين والكربوهيدرات والأحماض النووية) . فالانزيمات المحللة للبروتين تكسر البروتينات إلى ببتيدات وأحماض أمينية كذلك الانزيمات المحللة للأحماض النووية أهم نواتج التحليل لهما مركبات,(guanosine monophosphate) 5`-GMP (inosine monophosphate) 5`-IMP واللذين لهما تأثير يزيد من النكهة المشابهة للحم عند وجودهما مع الجلوتامات فى مستخلص الخميرة عندما تضاف إلى بعض الأغذية مثل بعض الصلصات أو الشوربة أو بعض أنواع الجبن.

وتتم عملية التحلل الذاتى بوضع المعلق السميك للخلايا (slurry) على 40-55 م تحت ظروف متحكم فيها لايحدث تلوث وتنشط الانزيمات الذاتية المحللة للخلايا لمدة 12-36

ساعة حتى تصل إلى الدرجة المطلوبة من التحلل ثم تبستر على 80-90° م ثم تبرد وتركز تحت تفريغ أو بالتجفيف بالرزاز حتى ترتفع نسبة المواد الصلبة إلى 70-80 ٪ فى طريقة التركيز تحت تفريغ، أو إلى 95 ٪ عند التجفيف بالرزاز كما يمكن الإسراع من عملية التحلل الذاتى بإضافة انزيمات خارجية محللة للبروتين أو محللة للجلوكان (glucanases ، proteases) .

مستخلص الخميرة yeast extracts :

يطلق مصطلح Extracts على ناتج التحلل الحامضى للخلايا hydrolysates أو ناتج عملية البلزمة للخلايا plasmolysates . وفى التحلل الحامضى للخلايا يتم معاملة معلق الخميرة الجافة غير النشطة (60 - 80٪) بواسطة حمض HCl بتركيزات مختلفة – يتبعها طبخ – تبريد ثم تعادل بواسطة NaOH – ترشح ثم تجفف بالرزاز ليصل التركيز إلى 95٪.

أما البلزمة plasmolysis فيستخدم فى هذه الطريقة ملح كلوريد الصوديوم ليحدث ضغط إسموزى أو أسيتات الإيثيل ليغير من نفاذية الخلايا وبالتالى يشجع من الإستخلاص ثم تجرى عملية ترشيح وتجفيف وهذه الطريقة تعطى منتج محدود التطبيق فى الأغذية وذلك لإرتفاع نسبة الملح فى المنتج النهائى هذا بالإضافة إلى أن إرتفاع نسبة الملح تحطم بعض الأحماض الأمينية، الفيتامينات مما يقلل من الأهمية التطبيقية لهذه المنتجات فى الأغذية.

ويتميز المستخلص بالحامض hydrolysate بارتفاع محتواه من حمض الجلوتاميك (6 ٪ تقريباً) والنيكليونيدات والأحماض الأمينية مما يجعل مستخلص الخميرة متميز هذا بالإضافة لأنها مصادر طبيعية وآمنة وأكثر قابلية من مستخلص البروتين النباتى hydrolyzed vegetable protein (HVP) .

مشتقات أخرى other derivatives :

وهذه تشمل المكونات الأخرى المستخلصة من خلايا الخميرة مثل الانزيمات والبروتينات والفيتامينات والأحماض الأمينية. ومن أهم الانزيمات المستخلصة انزيم الانفرتيز وانزيم بيتا جلاكتوسيديز (لاكتاز). هذا بالإضافة إلى منتجات أخرى مثل الألوان الطبيعية مثل صبغة الأستازانسين (astaxanthin) التى تنتج بواسطة الخمائر الحمراء

مثل *Phaffia rhodoryma* التى استرعت الإنتباه وهذه الصبغات تكسب اللون الأحمر لأسماك السلامون Salmon والتروات Traut وغيرها من الأحياء البحرية لذلك استخدمت فى تغذية الأسماك.

ومن بين المشتقات المستخلصة الأخرى الجلايكان Glycan وهو عبارة عن المكون الخام للجدار الخلوى لخميرة البيرة Brewers yeast أو خميرة الخباز Baker's yeast ويستخرج بالطرد المركزى بعد إعداد مستخلص الخلايا ثم تجرى عملية بسترة وتجفيف. وهو يحتوى على مواد كربوهيدراتية لا تقل نسبتها عن 75 ٪ من تركيبه وهذه تتكون من سلاسل طويلة من وحدات الجلوكان والمنان بنسبة 2 : 1 تقريباً واستخدم الجليكان بتصريح من (FDA) هيئة الغذاء والأدوية الأمريكية كمادة مستحلبة أو مادة مثبتة أو مادة تعطى قوام متماسك فى الكريمة الحامضية والجبن القابلة للفرد. ويتميز الجلوكان بمحتوى منخفض من الدهن وانخفاض السعرات الحرارية به لذلك يستحب كمادة مضافة للأغذية فى الأغذية منخفضة السعرات مثل بعض أنواع السلطات وفاتحات الشهية والآيس كريم والجبن.

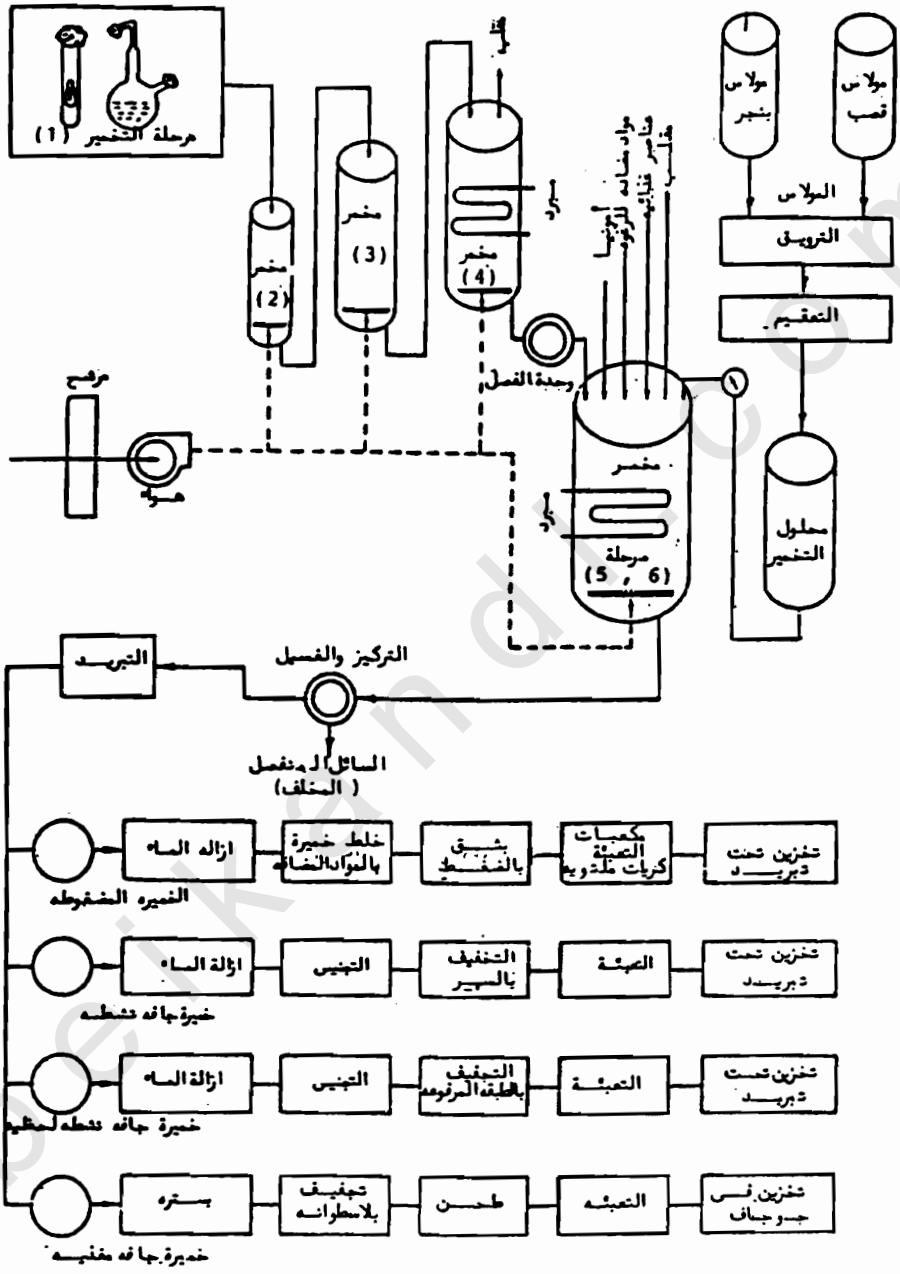
22 -7- 2 إنتاج البروتين الميكروبى :

Prduction of single cell protien (SCP)

ظهرت فى بداية القرن العشرين أول محاولة لتنمية الكائنات الحية الدقيقة وحيدة الخلية كمصدر مباشر لغذاء الإنسان. وقد إستخدم تعبير SCP لأول مرة عام 1966 بواسطة معهد Massachusetts Institute of Technology (MIT) وأتجهت الأبحاث والجهود نحو إنتاج البروتين من الكائنات الحية الدقيقة نظراً للمميزات الآتية:

- سرعة معدل نموها .
- كفاءتها المرتفعة فى الإستفادة من المواد الخام الرخيصة والمتوفرة (كمنتجات ثانوية أو مخلفات تصنيع) وتحويلها إلى خلايا.
- إنتاجها لا يعتمد على مساحات كبيرة ولا يتوقف على الظروف الجوية مثل المحاصيل النباتية.
- يمكن إستخدامها فى التغذية مباشرة أو بطريقة غير مباشرة بتغذية الحيوانات عليها.

ومن الأجناس الهامة التى تستخدم كمصدر للبروتين ما يلى :



شكل رقم 22 - 7 : خطوات تصنيع خميرة الخباز والخميرة الجافة

المصدر : Peppler (1979) .

البكتيـــريا	Bacillus , Methylomonas, Methanomonas
الخمائـــر	Candida, Rhodotorula , Saccharomyces
الفطريات	Aspergillus , Penicillium , Fusarium , Trichoderma
الطحالب	Chlorella , Scendesmus , Spirulina

وبصفة عامة يكون نمو البكتريا أعلى من الخمائر يليهما الطحالب والأعفان ، وتحتوى الميكروبات على نسبة مرتفعة من البروتين تزيد على 50 ٪ من الوزن الجـاف فى أغلب الميكروبات كما أن لهـا قدرة على تخليق البروتين أسرع من النباتات والحيوانات كما هو موضح فى جدول رقم 22 - 3، 22 - 4 .

جدول رقم 22 - 3 : معدل إنتاج البروتين (كل 1000 كجم) من المصادر المختلفة

الكائن (لكل 1000 كجم)	البروتين المنتج (كجم / يوم)	الإنتاج / اليوم (٪)
الأبقـــار	1	0.1
فول الصويا	10	1
الخـمائـر	10^5	10^4
البكتـريا	10^{11}	10^{10}

المصـدر : Riviere, *et. al.*, (1977).

وتختلف المواد الخام المستخدمة فى الإنتاج تبعاً لنوع الميكروب المستخدم فى الإنتاج وتبعاً لتوفر هذه المواد وإنخفاض سعرها وسهولة إستخدامها كما هو موضح فـى الشكل رقـم 22 - 8 ورغم مميزات البـروتين الميكروبـى فإن المنتج يواجه عـدد من المشاكل مثل محتواه العالى من الأحماض النووية وقابليته المنخفضة للهضم.

جدول رقم 22 - 4 : التركيب العام لمجاميع الميكروبات المستخدمة كمصدر للبروتين

	الأعفـان	الطحـالب	الخمـائـر	البكتريا
البروتين	50 - 31	62 - 46	53 - 46	78 - 72
الليبدات	8 - 2	20 - 7	6 - 2	3.0 - 1.0
الرماد	14 - 9	10 - 8	9.5 - 5	7 - 3
الأحماض النووية		8 - 3	12 - 6	16 - 8

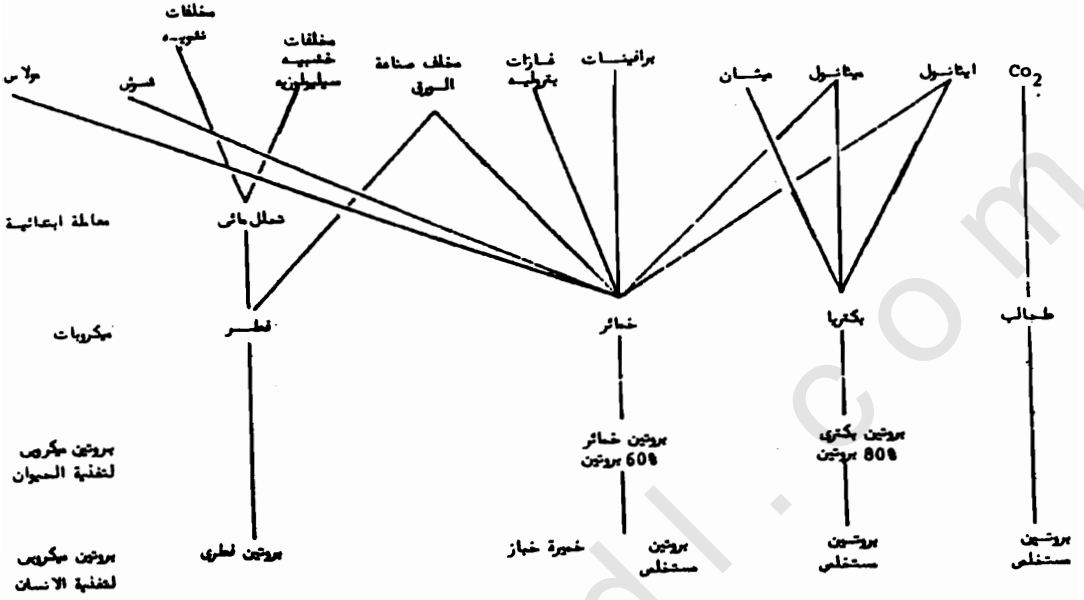
المصدر : Riviera *et. al.*, (1977).

أولاً : البروتين الخمائرى : Yeast protein

منذ الحرب العالمية الأولى وكذلك خلال الحرب العالمية الثانية كان هناك محاولات عديدة لإستخدام الخمائر لتغذية الإنسان والحيوان Food and Feed yeasts والخمائر يمكنها تخليق الأحماض الأمينية من مواد غير عضوية نيتروجين ومركبات كبريتية مثل أملاح الأمونيا والكبريتات وتحصل على الطاقة من مصادر كربونية مختلفة من المنتجات الثانوية الزراعية أو الصناعية مثل نواتج صناعة السكر وصناعة النشا ، كذلك شرش اللبن ولب الفواكه ومخلفات صناعة الورق.

ويفضل إستخدام الـ Pichia jadirii *(Candida utilis)* لأنها تتميز بمعدل نمو سريع وقدرتها العالية على إستخدام سكر البنتوز الموجود فى مخلفات صناعة الورق كما أنها لا تحتاج إلى إضافات غذائية أخرى لتدعيم بيئة النمو.

obeikandl.com



شكل رقم 22 - 8 : الخامات المستخدمة فى إنتاج البروتين الميكروبى (SCP) من مجاميع الميكروبات المختلفة

المصدر : Reed , (1982).

ثانياً: البروتين البكتيرى : Bacterial protein

يمكن الحصول على البروتين البكتيرى من أنواع مختلفة من البكتريا وفيما يلى بعض هذه الأنواع :

* بكتريا الهيدروجين Hydrogen bacteria

وهى ميكروبات هوائية تحصل على الطاقة اللازمة لها عن طريق أكسدة الهيدروجين وتكتسب الكربون من ثانى أكسيد الكربون وكانت تسمى جنس Hydrogenomonas ولكن هذا الجنس ألغى من التقسيم وأصبحت بكتريا الهيدروجين تتبع أجناس أخرى ومن الأنواع التى تنتج الـ SCP: *Pseudomonas saccharophila,Acidovorax facilis (Ps.Facilis)*;

Alcaligenes eutrophus, Variovorax paradoxus (Alc. Paradoxus).

ونظراً لأن بكتريا الهيدروجين تعتبر مصدر بروتينى ذو فائدة مرتفعة لذلك فقد أجريت دراسات أقتصادية فى هذا المجال ومن النقاط التى جلبت الأنتباه هى أن المواد المكونة لبيئة النمو مثل Co_2 وH_2 وO_2 والأملاح المعدنية لا تؤدى إلى حدوث تلوث للنمو الميكروبى بالعوامل الخارجية المسؤلة عن حدوث التأثيرات السرطانية كما فى حالة إستخدام الهيدروكاربون Hydrocarbon فى إنتاج البروتين الميكروبى.

وقد أجريت دراسات بواسطة وكالة الأبحاث الأمريكية للفضاء (NASA) على مدى إمكانية إستخدام هذا النظام الميكروبى فى توليد O_2 فى كبسولات الفضاء التي يوجد بها رواد الفضاء أثناء الطيران حيث وجد أن CO_2 الناتج أثناء تنفس الرواد يمكن أن يمتص بواسطة النظام الميكروبى وفى نفس الوقت يسترجع كمية من O_2 كافية عن طريق المزارع الميكروبية المنماه بطريقة المزارع المستمرة وقد طُبق هذا النظام لرواد الفضاء السوفيت خلال رحلاتهم حول الأرض.

* البكتريا الممثلة لغاز الميثان أو الميثانول

Bacteria utilizing methane or methanol

يتميز الميثان برخصه وتوفره ويعتبر مكون أساسى من غازات البترول بالإضافة إلى إمكانية إنتاجه خلال عمليات الهضم اللاهوائية لمخلفات المجارى ويمثل غاز الميثان أبسط صور الكربون عند إستخدامه لنمو البكتريا ويتميز إستخدام غاز الميثان فى أن الكمية غير المستهلكة من الغاز يمكن التخلص منها بسهولة عند إسترجاع البروتين الميكروبى فهو غاز ضعيف الذوبان فى الماء. ومن الأجناس التى لها القدرة على إستخدام الميثان والميثانول الـ Methylomonas والـ Methylococcus .

وعلى النطاق التجارى تنشأ بعض الصعوبات من إستخدام الميثان كمادة خام منها إحتمال حدوث انفجار وقابلية الذوبان المنخفضة للميثان تنشأ عنها مشكلة الإنتقال عبر الخلية ومن الصعاب الأخرى عند إستخدام بكتريا الميثان أنها تتميز بفترة جيل طويلة 3 - 16 ساعة وكمية الحرارة المنطلقة كبيرة والميثانول غالباً رخيص مثل الميثان ويمكن أن نحصل عليه من غاز الميثان الطبيعى عن طريق عمليات تحويل محدودة فعندما يستخدم كحول الميثانول

كمادة خام يؤدى إلى التخلص من مشكلة صعوبة إنتقال الغاز خلال الخلايا حيث أن الميثانول يمتزج تماماً مع الماء علاوة على ذلك فالمتطلب الأوكسجينى يختزل بعض الشئ لأن الميثانول يحتوى على ذرة أوكسجين وأيضاً كمية الحرارة المنطلقة هنا قليلة مما يترتب عليه تقليل تكاليف التبريد. وعموماً فإن الميثانول يفضل فى الإنتاج عن الميثان.

ثالثاً: البروتين الفطرى : Fungal protein

خلال الحرب العالمية الثانية أجريت محاولات لإستخدام مزارع من سلالات الـ Fusarium تنمى فى مخمرات كطعام بروتينى بإستخدام مصادر كربون مختلفة. ومن المعروف أن الفطريات كائنات حية دقيقة عديدة الخلايا هوائية تنمو فى مدى واسع من رقم الأس الهيدروجينى وعلى مدى واسع من درجات الحرارة ويمكنها الإستفادة من المواد الكربونية المعقدة فى صورة مخلفات زراعية وصناعية. وتحتوى الفطريات على حوالى- 60 30 ٪ بروتين وترجع أهميتها فى إنتاج البروتين الميكروبى إلى قدرة الخلايا على إنتاج إنزيمات مختلفة يمكنها من الأستفادة من المركبات العضوية المعقدة فى البيئة والتى غالباً ما تكون فى صورة مركبات سليولوزية ولكن لابد من إجراء بعض المعاملات المبدئية سواء طبيعية أو كيماوية على المخلفات السليلولوزية لزيادة كفاءة الإستفادة منها بواسطة الفطريات وذلك عن طريق التخلص من اللجنين والهيميسليلوز وتقليل درجة تبلور السليولوز وكذلك رفع درجة كفاءة إرتباط السليولوز بالماء.

رابعاً: البروتين الطحلبى : Algal protein

الطحالب (الحقيقية النواه) والبكتريا الخضراء المزرقة (البدائية النواه) لها القدرة على إستخدام الطاقة الضوئية، CO_2 وكمصدر للكربون بينما هناك ملاحظة لعدم كفاية محتوى الهواء منCO_2 لإعطاء أعل كفاءة من الإنتاج لهذا يفضل فى بعض الأحوال إستخدام مصدر عضوى للكربون. ويصل الإنتاج إلى 30 - 40 جم / لتر عند إستخدام طحلب *Chorella pyrenoidosa* المنمى تحت ظروف من التغذية العضوية بإستخدام جلوكوز فى البيئة كمصدر للكربون وفى طريقة أخرى للتنمية يضاف أملاح معدنية فى البيئة ويمرر غازCo_2 ويثبت رقم الأس الهيدروجينى بإستمرار نتيجة لإنتاج قلوية من البيكربونات المتكونة بالإضافة إلى أن معدل إذابةCo_2 يعتمد على معدل الضغط المستخدم. ويمثل ضوء الشمس

المصدر الوحيد الإقتصادى كمصدر للضوء وتنمو الطحالب فى بحيرات ومستنقعات لا يزيد عمقها عن 20-30 سم حيث نفاذ الضوء هو العامل المحدد لكثافة النمو الناتج والنمو الميكروبى الضئيل حيث يحتاج لإنتاج 1 جم / لتر كوزن جاف (0.4 جم كربون، 0.1جم نيتروجين، 0.01جم فسفور) والمصدرين الأخرين يستخدم لهما أملاح غير عضوية. ومن غير المرغوب الحصول على نمو كثيف لأن هذا قد يؤدى إلى عدم نفاذ الضوء وبالتالى يلزم عملية الإنتاج وجود تقليب حتى لا تترسب بعض الخلايا فى القاع مما يؤدى إلى عدم نموها كذلك طفوها على السطح يؤدى إلى جفافها ودرجة الحرارة اللازمة تتراوح من 25 - 35°م تبعاً للسلالة المستخدمة. ومما يجب ملاحظته أن إستخدام مستنقعات أو بحيرات مفتوحة تؤدى إلى تلوث النمو الناتج وإنتاج الطحالب يحتاج أجواء معينة من درجة الحرارة والشمس المناسبة . كذلك فإن إختلاف فصول السنة فى درجة الحرارة. يحتم الأهتمام بأختيار سلالة الطحلب التى تتميز بإتساع مدى درجات الحرارة المثلى لنموها كما تتطلب عملية جمع النمو بإستخدام عملية الطفو ثم طرد مركزى (وفى بعض الأوقات ذات الجو الدافئ يتم الطفو تلقائياً عند إرتفاع درجة الحرارة ورقم الأس الهيدروجينى للماء فى فترة بعد الظهيرة وذلك لزيادة غاز CO_2 المستهلك) ومن الطحالب والبكتريا الخضراء المزرقة المناسبة لهذا الإنتاج Spirulina , Spirogyra, Vaucheria, Porphyra , Hormidium , etc.

ويحتوى الطحلب الناتج على 60 ٪ بروتين بالنسبة للوزن الجاف.

المعاملات التى تجرى على الخلايا لإستخدامها كمصدر للبروتين

من العوامل التى تؤثر وتقلل من الإستفادة من البروتين الميكروبى هى عدم قابلية جدار الخلايا للهضم بواسطة العصارة المعوية وكذلك احتوائها على نسبة عالية من الأحماض النووية بالإضافة لمواد مكسبة لنكهة غير مرغوبة خاصة فى الخمائر والطحالب ولابد من قتل الميكروبات قبل إستخدامها فى التغذية حيث أن الخلايا الحية يمكنها أن تعيش وتتكاثر فى الأمعاء وتحدث تخمرات غير مرغوبة كما أنها قد تتحلل وينتج عنها أمينات غير مرغوبة أو تنمو وتستهلك مجموعة من الفيتامينات على حساب العائل. وللتغلب على ذلك لابد من قتل الخلايا جزئياً أو كلياً وإزالة جدر الخلايا وخفض الحامض النووى.

أولاً : تكسير جدر الخلايا : Disintigration of the cell wall

من المعروف أن الصورة الأولية التى يوجد عليها البروتين الميكروبى عبارة عن خلايا محاطة بجدار خلوى ووجود هذا الجدار يؤدى إلى عدم قابليتها للهضم بواسطة الإنسان ولذلك لابد من تحطيم جدار الخلية للرفع من كفاءة الإستخلاص للمحتويات الداخلية للخلايا وعلى رأسها البروتين. ومن الطرق المتبعة لهذا الغرض: الطحن التجميد والتسييل – إستخدام الضغط ثم خفض الضغط بسرعة – إستخدام الموجات فوق الصوتية – الإستخلاص بالمذيبات أو الأحماض أو القواعد ... ألخ.

وتُقيم كفاءة كل من الطرق السابقة فى عملية تكسير جدر الخلايا على أساس كمية البروتين المتحصل عليها من الخلايا وكذلك بالفحص الميكروسكوبى لمعرفة الخلايا المصبوغة والتى لم يتم تكسير جدرانها وكذلك إمكانية تطبيق الطريقة على النطاق التجارى. ولقد أتضح من تجارب عديدة أنه يفضل إجراء التحطيم الميكانيكى لجدر الخلايا بأى من الطرق السابقة مع إجراء إستخلاص للبروتين بإستخدام الأحماض العضوية أو اليوريا أو كربونات الصوديوم أو محلول ملحى لكلوريد الصوديوم ولكن يعاب على إستخدام المركبات الكيميائية فى الإستخلاص أنه يحدث فقد لبعض أنواع من الأحماض الأمينية.

وهناك طرق أخرى حديثة لتكسير جدر الخلايا منها:

أ– التحليل الإنزيمى لجدر الخلايا بواسطة إنزيمات السليوليز، ولكن هذه الطريقة أعطت نتائج منخفضة فى كفاءة هضم البروتين الميكروبى وذلك لوجود مركبات غير سيلولوزية فى جدر خلايا الميكروب.

ب– إستخدام الإنزيمات الموجودة فى الميكروب نفسه لإجراء عملية تحلل ذاتى autolysis لجدر الخلايا – أو وضع الخلايا فى محلول ملحى مرتفع التركيز يصل إلى 25 ٪ NaCl فيحدث تحلل ذاتى بالبلازمة plasmolysis وكلا الطريقتين تحتاج لوقت طويل (12 - 24 ساعة) على درجة 45 - 50 °م عند درجة 6.5 pH تحت ظروف التعقيم.

جـ– خلط خلايا الخميرة بالزيوت الصالحة للأكل وتسخن على درجة 175 °م لعدة دقائق ثم تفصل خلايا الخميرة والناتج يتميز بطعم ورائحة مستساغة.

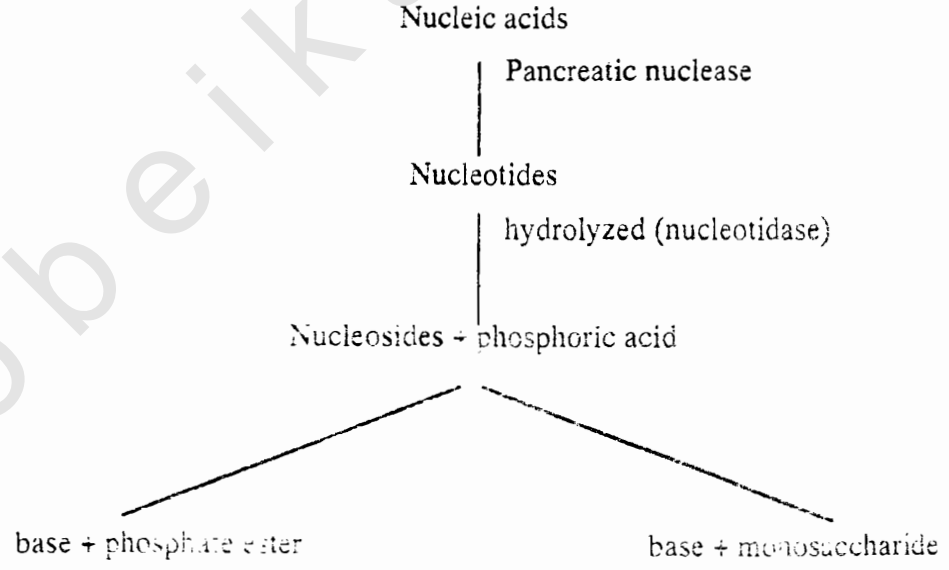
د- وهناك طريقة أخرى بسيطة ورخيصة وتتمثل فى تحطيم جدر الخلايا عن طريق التعقيم تحت ضغط للخلايا ثم التجفيف فتتحطم جدر الخلايا بدرجات متفاوتة .

وبصفة عامة تزداد كفاءة الهضم للخلايا المحطمة عن الخلايا الكاملة فمثلاً تزداد الكفاءة الهضمية لخلايا الـ *Bacillus megaterium.* من 76 ٪ للخلايا الكاملة إلى94 ٪ للخلايا المحطمة وكذلك تزداد من 65 ٪ لخلايا الـ *Pichia jadiuii (Caudida utilis)* الكاملة إلى95 ٪ للخلايا المحطمة.

ثانياً : خفض نسبة الأحماض النووية : Reduction of nucleic acids

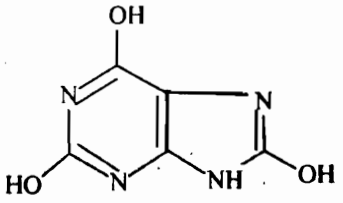
قبل أن نتناول الطرق المختلفة المستخدمة لخفض نسبة الأحماض النووية يجب أن نشير أولاً إلى التأثيرات الضارة الناتجة عن إرتفاع نسبة الأحماض النووية فى البروتين الميكروبى.

توجد الأحماض النووية بتركيز عالى فى الخلايا ذات معدل التكاثر العالى، وتحتوى الخلايا الميكروبية على حوالى 8 - 25 جم أحماض نووية / 100جم بروتين. وفى الأمعاء تتحول كما يلى:



obeikandl.com

وتتحول قواعد البيورين فى الإنسان وتعطى فى النهاية حامض اليوريك



ولا يفرز الإنسان إنزيم uricase (urate oxidase) المسؤل عن تحويل هذا الحامض من الصورة قليلة الذوبان فى الماء إلى الصورة الذائبة التى تفرز فى البول عن طريق الكلى وتأتى الخطورة من أنه إذا كان الطعام يحتوى على كمية كبيرة من الأحماض النووية فكمية حمض اليوريك المتكون تكون كبيرة ولا يتخلص منها الجسم كلها بواسطة الكلى وليس للجسم القدرة على تكوين أنزيم uricase وبالتالى يحدث تراكم للحامض على هيئة بللورات إما أن تتجمع فى المفاصل أو الأنسجة الرخوة وتسبب حصوات فى الكلى والمجارى البولية. أما بالنسبة لقاعدة البريميدين فالمعلومات عن خطورتها غير كاملة حتى الآن فحمض الأروتيك مولد للبريميدينات يسبب مرض التقرح فى الكبد.

* الطرق المختلفة لإختزال الأحماض النووية فى الـ SCP .

مما سبق يتضح أنه لابد من خفض نسبة الأحماض النووية عند إستخدام البروتين وحيد الخلية كمصدر للبروتين وللحصول على طريقة مقبولة للمعالجة يجب أن تكون الطريقة رخيصة وفعالة فى خفض نسبة الأحماض النووية والناتج لا يكون ملوثاً بمواد كيماوية غير مرغوب فيها.

وهناك طرق عديدة لخفض الأحماض النووية، وفيما يلى ملخص لأهم تلك الطرق :

– إستخدام طريقة الصدمة الحرارية thermal shock على درجة حرارة 54 - 70 °م لمدة ثوانى يتبعه تحضين على درجة حرارة 45 - 50 °م لمدة 2 ساعة وتحضين على درجة حرارة 55 - 60 °م لمدة ساعة. وعند إختصار خطوة الصدمة الحرارية فإن الخطوتين المتتاليتين للتحضين تؤدى إلى إختزال 10 ٪ فقط من الأحماض النووية بدلاً من 80-85 ٪

فى حالة إجرائها. وكذلك إجراء صدمة حرارية بدون تحضين تقلل كفاءة العملية. وقد وجد أن الصدمة الحرارية تنشط إنزيمات nucleases المسؤلة عن تحلل الـ DNA ، RNA . كما أن عملية التحضين من المحتمل أنها تسمح بحدوث سلسلة من التفاعلات الإنزيمية المسؤلة عن تسرب تلك المكونات من الخلية إلى الوسط الموجودة فيه.

– إجراء عملية إستخلاص للبروتين الميكروبى تؤدى إلى خفض الأحماض النووية وتجرى عملية إستخلاص البروتين بطرق مختلفة منها: إجراء عملية تجليس لمعلق الخميرة أو الخلايا ويضبط الـ pH حتى 9.5 وتسخن على درجة حرارة 60 °م لمدة 10 دقائق حتى يحدث ترسيب للبروتين مع خفض نسبة الأحماض النووية إلى حوالى 2 ٪ ثم يجرى إستخلاص للبروتين بواسطة كلوريد الصوديوم أو الأمونيا.

– إستخدام إنزيم mammalian pancreatic nuclease الذى يقوم بتحليل الأحماض النووية ونظراً لأن إستخدام هذا الإنزيم مُكلف فقد أتجهت الأنظار الآن لإنتاج إنزيم microbial phospho-di-esterases من الميكروبات عن طريق التخمر والذى يستطيع تكسير الأحماض النووية عن طريق كسر الروابط الأستيرية المرتبطة بمجاميع الفوسفات.

22 - 7 - 3 إنتاج الزيوت الميكروبية :

Production of single cell oil (SCO)

هناك زيادة سنوية فى الطلب على الزيوت والدهون بالإضافة أيضاً إلى الإرتفاع المستمر فى ثمنها فمن الوجهة الإقتصادية لا يقل إنتاج الدهن أهمية عن الإهتمام بالزيادة الإنتاجية للبروتين لذا أصبح البحث عن مصادر غير تقليدية لإنتاج الزيوت والدهون من أهم ما يفكر فيه العلماء والباحثين نظراً لزيادة عدد السكان فى العالم بشكل يهدد أمنهم الغذائى وكذلك النقص الشديد فى المصادر التقليدية للزيوت والدهون من الحيوانات والنباتات. لذلك أستطاع كثير من العلماء والباحثين الذين يعملون فى مجال الميكروبيولوجى بالإستفادة من كثير من المخلفات الزراعية أو مخلفات مصانع الأغذية وذلك عن طريق إستخدام الميكروبات لهذه المخلفات بعد معاملتها ببعض المعاملات الخاصة لكى تصبح وسطاً ملائماً لنموها.

وكما هو الحال فى إنتاج البروتين عن طريق تنمية الميكروبات المختلفة يستخدم فى إنتاج الدهون ميكروبات خاصة عادة من الخمائر والفطريات إلا أنها عملية أبطأ من إنتاج البروتين وتحتاج إلى دقة فى إختيار الميكروب الذى له القدرة على إحداث تراكم للدهون فى الخلية.

وعند أختيار السلالة المناسبة لإنتاج الدهون فإن كمية الدهون التى يكونها أى كائن ليست هى العامل الوحيد لأختياره كمنتج للدهون ولكن هناك عوامل أخرى لها أهمية فى أختيار السلالة مثل نوعية الدهن وتركيبه والقدرة على تكوينه من المادة الخام المستعملة فى التنمية ومعدل أو سرعة إنتاج الدهن. ومن ناحية أخرى فإن المعايير التى يجب وضعها فى الأعتبار عند إختيار أى كائن مجهرى لإنتاج الزيت أو الدهن مماثلة للمعايير اللازمة لعمليات التخمير الصناعية ويجب أن تحتوى الخلايا الناتجة على حوالى 40٪ بالوزن من الدهن لكى تعتبر بديلاً مقبولاً للدهون أو الزيوت النباتية والحيوانية على السواء.

هذا ويمكن أن تستعمل الخلايا المتبقية بعد الأستخلاص كعلف حيوانى. وفى حالة إستعمال المادة الناتجة كزيت أو دهن للطعام فيجب أن تكون هذه المادة غير سامة وسهلة الهضم وتحتوى بشكل رئيسى على نسبة 95 ٪ من الجلسريدات الثلاثية triglycerides . وعموماً فأن البكتريا والطحالب لا تصلح لإنتاج الدهون، ومن ناحية أخرى يفضل إستخدام الخمائر عن الأعفان. مما سبق يتضح أن الكائنات الدقيقة التى يمكن إستعمالها لإنتاج الدهون تشمل بشكل رئيسى الخمائر والأعفان ولقد تم إجراء العديد من الأبحاث بإستعمال عدة أنواع من الخمائر والأعفان وذلك منذ عام 1960 ولكن أكثر الآمال منعقدة على الأنواع التالية من الخمائر والأعفان.

أولاً : الخمـائر :

(أ) *Rhodotorula gracilis (syn. Rh. glutinis)*

تصل نسبة الدهون فى هذا النوع من الخمائر إلى 74 ٪ بينما يصل معامل الدهن Fat Coefficient إلى 21 ٪.

(ب) *Lipomyces lipoferus* and *L. Starkeyi*

تصل نسبة الدهون فى الـ *L. strakeyi* إلى 65 ٪ تقريباً من الوزن الجاف للخلية وقد لوحظ أن الـ *L. lipoferus* تنتج دهون أقل من *Rh. gracilis* (40 ٪ بالوزن) ولكنها تملك القدرة على الإستفادة من عدد أكبر من المواد الأولية الرخيصة مثل الأنسجة النباتية المتحللة جزئياً.

(جـ) *Candida sp.*

على الرغم من نسبة تركيز الدهون فى مثل هذه الأنواع قد وجدت أقل من نظيرتها فى الخمائر الأخرى إلا أن بعض الدراسات دلت على إنها تستطيع إستعمال أو الأستفادة من عدد هائل من مصادر الكربون مثل الألكانات المشبعة n. alkanes وسكر اللاكتوز والميثانول.

(د) *Cryptococcus terricolus*

ويمكن لهذه الخميرة أن تنتج نسبة أكبر من الدهن (55 - 68 ٪) تحت ظروف إنتاج عديدة ومتنوعة ولهذه الخاصية فإنها تختلف كلياً عن الكائنات الأخرى التى تحتاج إلى بيئة مناسبة ومدة أطول لزيادة تكوين أكبر قدر من الدهن.

ثانياً : الأعفـــان :

يعتبر عفن *Mucor circinelloides* من أكثر الأعفان إنتاجاً للدهون وتصل نسبة الدهن فيه حوالى 65 ٪ كذلك يحتوى عفن *Mortienella vinacea* على 65 ٪ من الدهون بينما يحتوى عفن *Aspergillus terreus* على 57 ٪ من الدهون ويحتوى عفن *Penicillum lifacinum* على 56٪ دهون مع معامل دهن يصل إلى 24 - 95 ٪ وهذه أعلى من أى قيمة تم تسجيلها لتحويل الكربوهيدرات إلى دهون بواسطة أى كائن مجهرى.

وبالإضافة إلى نوعية الميكروب فإن ظروف التنمية من تصميم المخمر ودرجة الحرارة ونظام التنمية ودرجة الحموضة بالإضافة إلى تركيب البيئة وهذه العوامل لها تأثير على كمية الدهن المنتج ونوعيته وتركيبه وسلامته بالنسبة للإستهلاك الآدمى.

وهناك عدة طرق أستخدمت لإستخلاص الدهون من الخمائر فقد أمكن إستخلاص الدهن من الـ *Candida lipolytica* بإستعمال مزيج من عدة مذيبات على خلايا حية

طازجة أو مجفدة. وكفاءة إستخلاص الدهون أعلى مع الخلايا المجفدة مع إستخدام مخلوط من الكلوروفورم والميثانول 1:1 فى الإستخلاص. وهناك طرق أخرى يجرى فيها إستخلاص الدهون من المادة المجفدة بإستعمال مزيج ساخن من الميثانول والبنزين بنسبة 1 : 4 وكذلك إستخلاص الدهون من عجينة طازجة من الخلايا بواسطة مزيج من الإيثانول وثانى إيثايل الأيثير بنسبة 3 : 1 . وقد نشأت مشكلة خاصة من خلال العمل بالطرق المقارنة لإستخلاص الدهون من الخمائر وهى إنه عند معالجة الخلايا بمذيبات عضوية معينة فإنها قد أدت إلى تنشيط إنزيم الـ phospholipase والذى يعمل على تحويل الفوسفوليبدات إلى جلسريدات ثنائية. ونظراً لإحتمال وجود نفس الإنزيم فى الخمائر فقد أوصى بمعالجة الخلايا بصورة مبدئية بالإيثانول المركز بنسبة 80٪ عند درجة حرارة 27°م لمدة 1 دقيقة لإيقاف نشاط الإنزيمات ويعقب هذه المعالجة إستخلاص الدهون بمزيج الكلوروفورم والميثانول وهذه الطريقة تؤدى إلى زيادة فى كفاءة إستخلاص الدهون من سلالات خميرة *S. cerevisiae* المنتجة للدهون بكمية عالية.

22 - 8 الأغذية المتخمرة : Fermented foods

عرفت الأغذية المتخمرة فى عصور ما قبل التاريخ وتنتشر منتجات الأغذية المتخمرة فى مناطق كثيرة من العالم ومن الشعوب التى عرفت التخمر منذ زمن بعيد المصريين ، السومريين والبابليون والآشوريين.

وتعرف الأغذية المتخمرة بأنها جميع الأغذية سواء فى الحالة الصلبة أو السائلة المتحصل عليها عن طريق توظيف الفعل الميكروبى أو الإنزيمى لوقف التغيرات الكيماوية الحيوية التى تسبب تغييرات غير مرغوبة وحث النشاط الإنزيمى المرغوب فى الأغذية. ويمكن بواسطة عمليات التخمر تحسين القيمة الغذائية للأغذية وزيادة قابليتها للهضم وتحسين نكهتها وصفاتها الحسية كما أن عمليات التخمر كطريقة لحفظ الغذاء توفر الكثير من الطاقة المستخدمة فى عمليات التبريد وعمليات الحفظ الأخرى.

ويمكن تلخيص دور التخمر فى إنتاج الأغذية المتخمرة فيما يلى :

– حفظ كميات كبيرة من الغذاء وذلك من خلال عمليات التخمر اللاكتيكى والكحولى

والخليكى – تدعيم الوجبة الغذائية وذلك من خلال التغيرات المرغوبة للنكهة والرائحة وقوام المواد الغذائية – زيادة القيمة الغذائية الحيوية للأغذية وذلك من خلال زيادة المحتوى من البروتينات والأحماض الأمينية الأساسية والأحماض الدهنية الأساسية والفيتامينات – التخلص من بعض السموم وذلك من خلال عمليات تخمير الأغذية – تقليل وقت طبخ الأغذية ومن ثم الإحتياجات من الوقود – تحويل بعض الخامات غير المقبولة إستهلاكياً فى صورتها الطازجة إلى منتج مقبول.

ويجب عند استهلاك الأغذية المتخمرة مراعاة أن معظم هذه الأغذية المنتجة تستهلك معها الميكروبات أيضاً بطريقة غير مباشرة مع المنتج لذلك لابد من التأكد من نقاوة البادئ المستخدم حتى نضمن سلامة المنتج حيث أنه توجد بعض الميكروبات غير مرغوب وجودها لقدرتها على إنتاج سموم وذلك مثل *Staphylococcus aureus* ، *Bacillus cereus* ، *Aspergillus flavus*.

ويمكن تقسيم الأغذية المتخمرة إلى :

1– المشروبات الكحولية .

2– منتجات الخضر والفاكهة المتخمرة.

3– منتجات الحبوب المتخمرة.

4– منتجات اللحوم المتخمرة.

5– منتجات الأسماك المتخمرة.

6– البقوليات المتخمرة.

7– منتجات أخرى.

22 - 8 - 1 المشروبات الكحولية : Alcoholic beverages

تعتبر المشروبات الكحولية مثل البيرة والنبيذ من أقدم أنواع الأغذية المتخمرة وبالرغم من إختلاف الآراء نحو مصدر وأصل هذه الصناعات إلا أن العلماء يعتقدون أن الحضارات السومارية والبابلية وقدماء المصريين كانوا يمتلكون الحبوب التى هى أصل هذه الصناعة.

obeikandl.com

ومما يجعلنا نرجع للوراء آلاف من السنين حيث كان يستخدم الشعير والذرة العويجة وغيرها من الحبوب حيث تشكل فى صورة أقراص وأرغفة ثم تخبز ثم تجزأ وتوضع فى الماء وتخمر وكان يوجد منها عند الرومانيين والعرب والألمان أنواع مختلفة بعضها سكرى والبعض الآخر حامضى ثم تطورت هذه الصناعة تدريجياً. وكانت تنتج البيرة قديماً بدون إستخدام حشيشة الدينار مع إستخدام توابل وحشائش مختلفة فى الصناعة وخاصة فى ألمانيا. وقد عرفت حشيشة الدينار عند قدماء المصريين وأنتشر إستخدامها فى شمال ألمانيا وعم إستخدامها فى جميع الأنواع فى القرن الرابع عشر والخامس عشر بينما فى إنجلترا عم إستخدامها فى القرن السادس عشر والسابع عشر . وفيما يلى نوضح أهم خطوات تصنيع هذه المشروبات الكحولية.

* **مشرويات المولت المتخمرة :** Malt beverages

يُطلق مشروب المولت أو البيرة Malt beverages beer brewing على الناتج النهائى لعمليات إستخلاص منقوع حبوب الشعير المنبتة المجففة ثم يتم تخمير محتواها السكرى بالإضافة إلى المحتوى السكرى للمواد المساعدة malt adjuncts بواسطة الخميرة حيث تتحول الكربوهيدرات إلى كحول ، CO_2 ، ويضاف إليها حشيشة الدينار ويطلق على المنتج النهائى أسماء مختلفة تبعاً لتركيب المنتج النهائى ومواصفاته مثل lager beer ، ale beer ويختلف تركيب البيرة تبعاً لعدة إعتبارات:

– طبيعة ودرجة جودة المواد الخام المستخدمة – المعاملات التى تجرى على الحبوب – طريقة الإستخلاص المتبعة – سلالة الخميرة المستعملة – الإنزيمات الموجودة بالمولت ودرجة نشاطها.

ويستخدم فى هذا النوع من التخمر سلالة خميرة الـ *S. cerevisiae* ، وتنقسم الخميرة المستخدمة لقسمين ، خميرة قمية top fermenting yeast كالمستخدمة فى صناعة الـale beer ، خميرة قاعية bottom fermenting yeast التى تستخدم فى إنتاج الـ lager beer وغيرها من الأنواع. بالإضافة إلى الـ*S. cerevisiae* يستخدم أيضاً سلالة *S. bayanus.* (*S. uvarum*)، وينقسم أفراد هذه السلالات فى درجة تجمعها إلى:

1- ضعيفة التجمع أو مفردة poorly flocculative, powdery yeast .

2- عالية التجمع أو متكتلة highly flocculative , clumping yeast .

وهذه الخاصية تؤثر بدورها على صفات المنتج النهائى حيث أن الخميرة التى لها القدرة على التجمع تنفصل مبكراً من محلول التخمر مما يؤدى إلى إنتاج منتج غير مكتمل التخمير ومرتفع فى نسبة السكر بالتالى كما أنها تتميز بعدم وجود النكهة المسماهharsh flavour التى تنشأ فى البيرة لإفرازات الخميرة والتغييرات الإنزيمية التى تسببها. وعلى العكس فالخميرة قليلة التجمع powdery yeast. تنتج بيرة ثابتة المواصفات بالإضافة إلى بقاء كمية صغيرة من الخميرة كافية لإتمام التخمرات الثانوية أثناء فترة التعتيق. أما الخميرة غير المتجمعة very powdery yeast فإنها تعيق كفاءة عملية الترويق مما يؤثر على جودة المنتج.

وتؤثر كل من الصفات الفسيولوجية والصفات الوراثية للخلايا والظروف البيئية على ظاهرة التجميع flocculation فى الخميرة.

وتشمل المواد الخام المستخدمة فى صناعة مشروبات المولت malt beverages كل من الشعير المنبت malt والمواد المساعدة malt adjuncts وحشيشة الدينار hops والماء .

* ويجهز المولت عادة كعملية مستقلة بذاتها وذلك بنقع حبوب الشعير فى الماء لرفع نسبة الرطوبة إلى الحد الذى يسمح بالإنبات وتتم عملية النقع لمدة 48 - 60 ساعة على 10-15.5° م وتصل الرطوبة إلى 41 - 45 ٪ ويجب تغيير الماء عدة مرات والتهوية أيضاً وبعد ذلك تجرى عملية الإنبات ، والغرض من هذه الخطوة هو تنشيط الإنزيمات المسؤلة عن تحليل المركبات المختلفة الموجودة فى الحبة إلى الصورة القابلة للإستفادة منها للخميرة. وتتم عملية الإنبات على درجة 15.5 - 21° م لمدة 7 أيام وتحدث فيها عدة تغييرات تشمل تغييرات مورفولوجية وتغيرات فسيولوجية وتغيرات إنزيمية. تجرى بعد ذلك عملية التجفيف حتى تصل نسبة الرطوبة إلى 4 ٪ والغرض من عملية التجفيف هو وقف عملية الإنبات – تكوين اللون المرغوب فى المولت – تكوين الطعم والرائحة المرغوبين – خفض نسبة الرطوبة (العامل الأساسى فى حفظ المولت). وتتم عملية التجفيف خلال 24 ساعة حيث تبدأ

بإستخدام درجة حرارة50 م حتى لا تتأثر الإنزيمات ومع إنخفاض نسبة الرطوبة يمكن إستخدام درجات حرارة أعلى وتكون الدرجة النهائية 80 م.

ويتركب المولت الناتج على أساس الوزن الجاف من 59 ٪ نشا و 10 ٪ سكريات و 10 ٪ صموغ و 5 ٪ سليولوز و 10 ٪ بروتين و 2.5 ٪ دهن و 2 ٪ رماد.

* وتستخدم مساعدات المولت malt adjuncts بالإضافة إلى الشعير فى بعض البلاد مثل الولايات المتحدة الأمريكية والغرض من إستخدامها هو خفض المحتوى النيتروجينى فى المستخلص والإستفادة من كمية الإنزيمات الوفيرة المحللة للنشا فى أصناف الشعير الأمريكية بالإضافة إلى أنها تعتبر مصدر للكربوهيدرات حيث أن النسبة المرتفعة من النيتروجين غير مرغوبة فى الصناعة لأنها تقلل من قوة الحفظ وجودة المنتج.

وتشمل مساعدات المولت malt adjuncts بعض الحبوب سواء على صورة مطبوخة أو غير مطبوخة أو أى صورة أخرى من الكربوهيدرات مثل السكر أو المحاليل السكرية أو مستخلص الفواكه.

* أما حشيشة الدينار المستخدمة فى إنتاج مشروبات المولت فهى النورات المؤنثة المجففة لنبات حشيشة الدينار hops وهى تضاف بغرض تأثيرها الحافظ للمنتج anticiptic كما أنها المسؤلة عن الطعم والنكهة المميزين للناتج النهائى فهى مصدر لكل من التانينات tannins والراتنجات resins والزيوت الطيارة essential oils والبكتين وغيرها من المركبات.

وأهمية التانينات فى الصناعة العمل على ترسيب البروتينات غير الثابتة أو القابلة للترسيب أثناء غليان الـ wort كما يرجع الطعم المر لوجود resins كما أنها مسؤلة عن الفعل المثبط للبكتريا الموجبة لصبغة جرام واشتراكها مع البروتينات فى تكوين الرغوة. أما الزيوت التى تدخل فى تركيب حشيشة الدينار فهى المسؤلة عن إعطاء النكهة. ومن التطورات التى حدثت بهذه الصناعة هو إضافة مستخلص الهسكان لحشيشة الدينار المحتوى على الـ resins بدلاً من إستخدام الحشيشة نفسها.

* ويهتم المشتغلين بهذه الصناعة بمعرفة تركيب الماء المستخدم فى الإنتاج لما له من

أهمية كبيرة على جودة الناتج حيث يهتم المنتج بمعرفة كمية ونوع الأملاح الموجودة فى الماء فى صورة ذائبة حتى يكون فى درجة العسر المناسبة. ويتوقف جودة المنتج من البيرة تبعاً لصفات الماء المستخدم. ويجب أن يتصف الماء المستخدم فى الصناعة بالمواصفات الآتية:

– درجة الأس الهيدروجينى يتراوح بين 6.5 - 7 - يحتوى على أقل من 20 - 250 جزء فى المليون من الكربونات الكاية، أقل من 250 - 500 جزء فى المليون كبريتات كالسيوم، أقل من 200 - 300 جزء فى المليون كلوريد صوديوم وأقل من 0.1 جزء فى المليون حديد.

وتتلخص خطوات التصنيع فيما يلى :

عملية الإستخلاص Mashing

الغرض من هذه العملية هو عمل تحلل إنزيمى للخامات المستخدمة كمصدر للكربوهيدرات والبروتينات ويسمى المستخلص الناتج sweet wort نتيجة لفعل الإنزيمات ويحتوى على دكسترين – مالتوز – مواد سكرية – مواد بروتينية – أملاح معدنية – مواد تانينية – صبغات نباتية . وعملية الإستخلاص تعتمد على فعل الإنزيمات حيث تحول المواد الكربوهيدراتية المعقدة إلى سكريات بسيطة يمكن للخميرة الإستفادة منها ودكستريدات مرغوبة لقوام البيرة الجيد، وكذلك تحويل البروتينات إلى مركبات بسيطة وأحماض أمينية يمكن للخميرة إستخدامها.

وتبدأ عملية الإستخلاص بإجراء عملية جرش للحبوب والمواد الأخرى المضافة كمصدر للنشا والكربوهيدرات فى حالة ما إذا كانت الحبوب المضافة مثل الأرز والذرة. وفى عملية الجرش يجب مراعاة عدم تكسير القشرة بقدر الإمكان حيث أنها تساعد فى الترشيح فيما بعد، كما أن حجم الجزيئات إذا قل عن حد معين تكون عملية الترشيح صعبة، وبالنسبة للمواد المضافة لابد من إجراء عملية جلتنة gelatinization للنشا حتى تسهل عمل إنزيمات الأميليز بعد ذلك.

ويوجد نظامان للإستخلاص:

1- **الإستخلاص بدون غليان** Infusion method

وهناك طريقتان تتبعان فى هذا الخصوص وهما :

أ- طريقة الرفع : Upword method

وفيها يخلط المولت بالماء وتعمل عجينة وترفع درجة الحرارة من 38 م إلى 50 م لمدة ساعة وهذه الدرجة تلائم عمل الإنزيمات المحللة للبروتين proteolytic enzyme ثم ترفع درجة الحرارة إلى 65 - 70 م لدقائق قليلة لتشجيع عمل الإنزيمات المحللة للنشا إلى سكريات sacchorolytic enzyme ثم ترفع بعد ذلك إلى 80 م لوقف نشاط الإنزيمات المختلفة ثم يُرشح عند هذه الدرجة ويسمى المترشح wort .

ب- طريقة الخفض : Downword method

فى هذه الطريقة ترفع درجة حرارة الماء والمواد المساعدة إلى77 م ثم يضاف المولت والذى يعمل على خفض درجة الحرارة إلى55 م -70 م فتنشط الإنزيمات المحللة للنشا ثم تخفض بعد ذلك إلى 40 م لتشجيع عمل الإنزيمات المحللة للبروتين. ويلاحظ فى هذه الطريقة أن درجة الحرارة النهائية منخفضة عن درجة الحرارة المُبتدئ بها .

2- **الإستخلاص بالغليان** Decoction method

وفى هذه الطريقة يسخن المولت مع الماء على درجة حرارة منخفضة 40 م لمدة نصف ساعة لكى تنشط الإنزيمات المحللة للبروتين. ثم ترفع درجة الحرارة تدريجياً حتى75 م وذلك بأخذ جزء من الخليط (حوالى الثلث) وغليه وإضافته إلى المستخلص الأصلى، والجزء الذى يغلى يحدث فيه تليين لجدران خلايا الحبوب مما يُسهل عملية الإستخلاص، وتكرر هذه العملية مرة أو مرتان أو ثلاث مرات وعلى ذلك تُسمى single, double or triple mashing process . وفى هذه الطريقة تنتج كمية كبيرة من المستخلص ولكن النكهة تكون أفضل فى النظام الأول.

تعتبر درجة الحرارة من أهم العوامل المؤثرة على كفاءة عملية الإستخلاص حيث أن درجة الحرارة المنخفضة 60 - 65 يشجع إنزيمات الإميليز على إنتاج السكريات الأحادية.

بينما درجة الحرارة المرتفعة 70 - 75 تنتج كمية أكبر من الدكستريدات التى تسبب بطئ عملية الترشيح كما أنها لا تتخمر بواسطة الخميرة. ومن ذلك يستنتج أن إستخدام درجة حرارة منخفضة يؤدى إلى إنتاج كمية كبيرة من السكر ومنخفض من الدكستريدات وقد يضاف فى بعض المصانع مستخلص الإنزيمات لتحويل الدكستريدات إلى مالتوز وجلوكوز والتى تخمر بعد ذلك بواسطة الخميرة.

بعد ذلك تجرى عملية غلى المستخلص مع حشيشة الدينار لمدة 1.5 - 2.0 ساعة لعدة أسباب – تركيز المستخلص – حدوث شبه تعقيم والتخلص من الميكروبات غير المرغوبة – وقف نشاط الإنزيمات – إستخلاص المواد الذائبة من حشيشة الدينار – ترسيب البروتينات وغيرها من المواد – كرملة السكر حيث يؤدى إلى إكساب لون وطعم مرغوبين فى البيرة الناتجة.

وتعتبر درجة pH 5 - 5.5 هى درجة الحموضة الملائمة للحصول على أعلى إستخلاص ، فهذه الدرجة من الحموضة ملائمة لعمل معظم الإنزيمات المسؤلة عن الإستخلاص مثل protease , amylase ومناسب أيضاً لعملية التخمير والترشيح.

ولتوحيد تركيب ومواصفات الناتج النهائى يجب توحيد الوقت اللازم لعملية الإستخلاص ويتوقف الوقت المستخدم على درجة الحرارة – الحموضة – تركيز المستخلص وغيرها من العوامل.

بعد غلى مستخلص الشعير المنبت (wort) وتصفيته للتخلص من المواد المتجمعة الراسبة ومن حشيشة الدينار المتبقية يبرد فجائياً إلى الدرجة الملائمة لعملية التخمير ثم يلقح بعد ذلك بالبادئ المجهز من المزرعة المنتخبة ونسبة الإضافة اللازمة لعملية التخمير هى1رطل / برميل (30جالون) من الـ wort وتتوقف درجة حرارة التخمير والمدة اللازمة للتخمير تبعاً لنوع عملية التخمير (بإستخدام خميرة قمية أو قاعية) فمثلاً فى حالة الخميرة القمية تتم على درجة حرارة15.5 م لمدة 5 - 7 أيام كما هو الحال فى إنتاج الـ ale beer أما فى حالة الخميرة القاعية لإنتاج lager beer تفضل درجة الحرارة7.7 م لمدة 7 - 12 يوم وفى أول مراحل التخمير تتكون السكريات الأحادية من المالتوز ثم يمر الجلوكوز بدوره Embden - Meyerhof pathway (EMP) وبجانب إنتاج الكحول وثانى أكسيد

الكربون فى نهاية عملية التخمير تتكون مركبات أخرى بكميات بسيطة مثل الجليسيرول وحامض الخليك أو أحماض عضوية أخرى واسترات سكريات مختلفة ويجب مراعاة أن يكون تكوين الكحولات الأخرى طويلة السلسلة (fusel oil) بكميات بسيطة حتى لا تؤثر على جودة المنتج ويتوقف نوعية هذه المكونات تبعاً لنوع السلالة والبيئة المستخدمة وظروف التخمير.

ويجب ملاحظة أن ناتج عملية التخمير يحتوى على مواد غير مرغوبة فى صورة معلقة وللتخلص من هذه المواد تخزن لعدة أسابيع على صفر°م لإعطاء فرص لترسيب المواد البروتينية المعلقة والخميرة والريزينات resins وغيرها من المواد غير المرغوبة ثم يتم التخلص منها بعد ذلك بواسطة الطرد المركزى، والغرض من التخزين أيضاً هو إجراء عملية تعتيق للبيرة فتتكون بعض الإسترات والأحماض العضوية والمواد المكسبة للنكهة التى تكسب الناتج النهائى نكهة ولون مميزين.

بعد إجراء عملية التعتيق ثم الترويق تجرى عملية إضافة ثانى أكسيد الكربون carbonation حيث يضاف إلى البيرة المعتقة تحت ضغط بحيث تكون نقاوة ثانى أكسيد الكربون 95.5٪ ونسبته فى البيرة الناتجة 0.45 - 0.52 ٪ وقد يضاف ثانى أكسيد الكربون بطريقة أخرى يطلق عليها "Krause" process وفيها ينتج ثانى أكسيد الكربون فى البيرة بطريقة طبيعية عن طريق إستخدام خميرة نشطة تضاف لغرض إنتاج ثانى أكسيد الكربون من تخمير السكريات المتبقية. وهذه الخميرة تؤخذ من المرحلة الأولى للتخمير ويصل تركيزها المستخدم 15٪ وفائدة هذه العملية هى إحلال ثانى أكسيد الكربون محل الأوكسجين فى البيرة، (وهنا يجب الترشيح للتخلص من الخلايا المضافة). وإزالة الهواء مهم جداً فى هذه الصناعة حيث أن وجود الهواء يسبب أضرار كثيرة ويقلل من قوة حفظها كما أن ثانى أكسيد الكربون يعطى الطعم المميز لها ويحافظ عليها. وبعد ذلك تعبأ البيرة وعادة تجرى لها عملية بسترة على 60°م للوقت اللازم لقتل الميكروبات وعادة تستغرق الزجاجة 55دقيقة من وقت دخولها لجهاز البسترة إلى وقت الخروج. وبعد ذلك تجرى عملية لصق البطاقات والتعبئة فى الصناديق.

مشروب المولت الخالى من الكحول : Alcohol- free beer (Birell)

ينتج حالياً إلى جانب شراب المولت المتخمر منتج آخر خالى من الكحول بنفس الخطوات السابقة فى إنتاج البيرة حتى خطوة الحفظ والتعتيق ثم يجرى ما يلى :

1- التقطير وفصل الكحول Distillation and dealcolization

حيث يتم تقطير البيرة لفصل الكحول تحت تفريغ حيث يرتفع تركيز مستخلص المولت من 10 ٪ إلى 16.5 ٪ ويحفظ المركز خالى الكحول فى تانكات حتى الإستخدام.

2- التخفيف Dilution

وفيها يتم تخفيف المركز من 16.5 ٪ إلى 5.5 ٪ وحالياً تخفف إلى 4 ٪ وذلك بإستخدام ماء معالج مكربن لمنع الأكسدة.

3- إعداد المحلول السكرى

يتم إعداد المحلول السكرى بإضافة كمية السكر المحسوبة مع كمية الماء وإجراء التسخين لسرعة إذابته وإنتاج محلول سكرى عالى التركيز حيث يبرد بعد ذلك عن طريق مبادل حرارى لنزوله إلى صهريج الحفظ حيث يجرى تخفيفه.

أثناء عملية الإذابة يضاف قدر محسوب من حمض الستريك لخفض درجة الحموضة إلى pH2 - 3 تقريباً وبعد تبريده واستقباله فى صهريج الحفظ تضاف مكسبات الطعم المراد إضافتها له سواء كان ليمون أو تفاح مركز بالقدر المناسب وبعد ذلك يجرى التخفيف إلى تركيز 12 ٪ حيث يتم خلط المحلول السكرى (12 ٪) مع wort المخفف 4 ٪ بنسبة 1:1 وإنتاج خليط شراب المولت المطعم بطعم الليمون أو التفاح بتركيز سكر8 ٪. يجرى ترشيح الخليط بعد 24 ساعة من تجهيزه وتمام التجانس ويبرد أثناء الترشيح إلى درجة حرارة تقرب من الصفر مع إجراء عملية الكربنة (إضافة ثانى أكسيد الكربون) إلى نسبة 0.60 ٪ (نسبة وزنية) وإستقبال المترشح فى صهاريج التعبئة إستعداداً لتعبئته بعد ساعة من الترشيح.

تجرى التعبئة فى زجاجات (تم غسلها فى ماكينات الغسيل) تحت ضغط من ثانى أكسيد الكربون ثم تجرى عملية البسترة على62 °م لمدة 20 دقيقة ثم لصق البطاقات labels

على الزجاجة ثم توضع فى الصناديق والتخزين بعد ذلك.

وقد تم تعديل خطوات الصناعة لإنتاج شراب المولت الخالى من الكحول حيث لا تجرى خطوات التخمير ثم يجرى تخفيف wort المبرد إلى تركيز 4 ٪ والخلط مع المحلول السكرى (12 ٪) بنسبة 1 : 1 للوصول إلى تركيز 8 ٪.

22 - 8 - 2 منتجات الخضر والفاكهة المتخمرة :

Fermented fruit and vegetable products

يُستخدم التخمر اللاكتيكى كأحد طرق حفظ الخضروات المختلفة مثل الخيار والكرنب واللفت والجزر والفلفل وغيرها من الخضر، كذلك حفظ بعض أنواع الفاكهة مثل الزيتون وثمار المانجو فى بعض البلاد مثل الهند. والغرض الأساسى من إنتاج الخضروات والفواكه المتخمرة هو تحويل الخامات الزراعية من حالتها الطازجة إلى منتجات ذات طعم مميز لإستخدامها فى الوجبات الغذائية كفاتحات شهية نظراً للنكهة المميزة نتيجة حدوث التخمر اللاكتيكى بالإضافة إلى نسبة الملح المضافة والنكهة الناتجة من إستخدام بعض التوابل المختلفة. وصناعة التخليل من أكثر الصناعات التخميرية المنتشرة فى مصر إلا أنها لا تعتمد على طرق موحدة فى الإنتاج بل يقوم بإنتاجها مصانع صغيرة موزعة فى المدن بالإضافة إلى أنها تعتبر من الصناعات المنزلية حيث يلعب فيها الإجتهاد الشخصى دوراً كبيراً .

ومن أهم النقاط الواجب مراعاتها أن يكون الماء المستخدم فى تحضير المحلول الملحى خالى من التلوث بالمعادن مثل الحديد والنحاس ويحتوى على كالسيوم ليحسن من قوام الخضروات المخللة. ولا يعتبر الملح وحده ذو تأثير حافظ ، إلا إذا وصلت نسبته إلى 16 ٪ أو عندما تصل الحموضة إلى 4 - 5 ٪، وبما أن تركيز الملح أو الحموضة كل على حدة لا يستطيع أن يستسيغه المستهلك لذلك يُستخدم الأثنين معاً بحيث يكون نسبة الملح 7 - 8 ٪، نسبة الحموضة 2 - 3 ٪ كحمض لاكتيك.

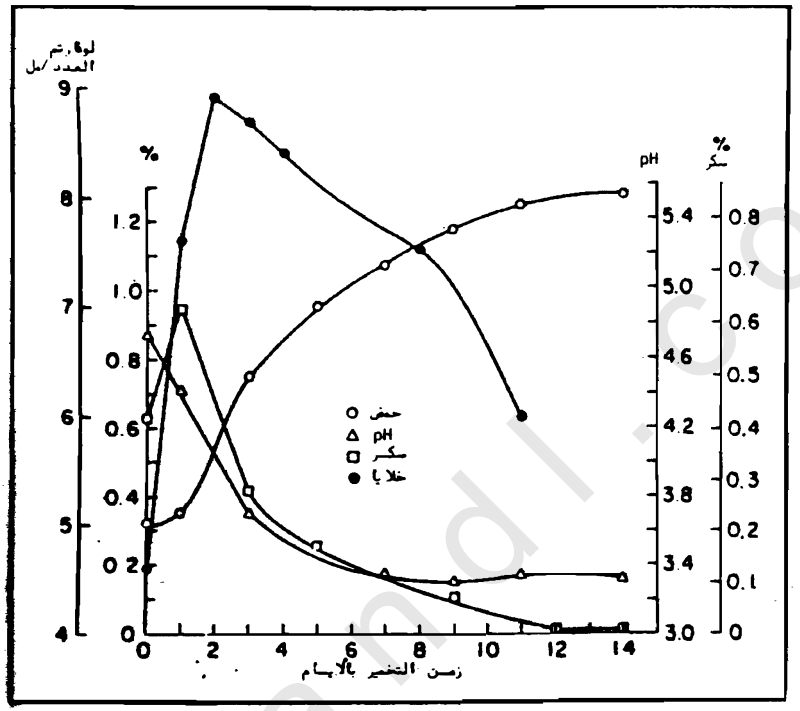
وتختلف خطوات إعداد الثمار للتخليل تبعاً لنوع الثمار المستخدمة فى التخليل، فمثلاً الخيار يكتفى بغسله وفرزه وتدريجه للحجم المرغوب فى التخليل بينما الكرنب تقطع الأوراق الداخلية إلى شرائح أما اللفت فتزال الأوراق والجذور الثانوية الموجودة على الجذر الدرنى الأصلى ثم تجزأ تبعاً للطلب، ويعامل الزيتون بالقلوى بعد فرزه وتدريجه وذلك للتخلص من

المواد المسؤلة عن المرارة وتغيير النكهة.

أولاً : الكرنب المخلل : Sauerkraut

يعبر المصطلح sauerkraut عن الكرنب الحامضى أو الناتج المتخمر للكرنب الطازج . والبادئ المسؤل عن عملية التخمر هو عادة الفلورا الطبيعية الموجودة على الكرنب الخام وتبدأ عملية التخمير بعد إضافة الملح إلى الكرنب المقطع بنسبته 2.25 - 2.50 ٪ كلوريد صوديوم ووظيفة الملح الأساسية هى سحب العصارة الخلوية من أجزاء النبات عن طريق خاصية الضغط الأسموزى بحيث تهيئ الوسط المناسب لنمو الميكروبات المسؤلة عن التخمير كما أن هذا التركيز من الملح يحد من نشاط الفلورا الطبيعية غير المرغوبة مثل البكتريا السالبة لجرام بينما لا يؤثر على بكتريا حامض اللاكتيك العصوية والكروية التى يلائمها هذا التركيز، ويضاف الملح إما فى الصورة الجافة أو فى صورة محلول ملحى وتفضل الصورة الأولى فى تخليل الكرنب.

بعد تقطيع الكرنب إلى شرائح يوضع فى العبوات المناسبة ثم يضاف الملح كما سبق الذكر ، ويضغط ميكانيكياً لإتمام إخراج العصير من الأنسجة النباتية وهذه عملية متممة للضغط الأسموزى ويحتوى العصير على سكريات طبيعية قابلة للتخمير وغيرها من العناصر الغذائية المناسبة لنشاط ونمو الفلورا. وبعد مرور ساعة على هذه العملية يبدأ تكوين الحموضة نتيجة لنشاط الميكروبات الكروية المنتجة للغاز *Leuconostoc mesenteroides* وعند وصول الحموضة إلى 0.25 - 0.3 ٪ محسوبة كحمض لاكتيك ينخفض نشاط البكتريا الكروية وتختفى تدريجياً حتى تصل الحموضة إلى 0.7 - 1.0 ٪ تختفى تماماً يعقب ذلك البكتريا العصوية *Lactobacillus plantarum* المسئولة عن استكمال إنتاج حامض اللاكتيك وهذه البكتريا تنشط فى إنتاج الحمض حتى يصل إلى 1.5 - 2.0 ٪ يعقب ذلك المجموعة الثالثة من البكتريا العصوية المسئولة عن رفع الحموضة إلى 2-2.5 ٪ وهى *L.plantarum , L. brevis* المنتجة للغاز والحامض. ويوضح الشكل (22 - 9) التغيرات الكيموحيوية أثناء التخمير. وبعد الوصول لهذه الدرجة من الحموضة يجب أن يحفظ المخلل بعد ذلك بأى طريقة تحد من نمو أى ميكروبات طبيعية موجودة مثل الخمائر والأعفان الملوثة للثمار من التربة حيث أن لها القدرة على تحمل الحموضة الناتجة وإستخدامها للأحماض كمصدر للطاقة وتغير من جودة المنتج.



شكل 22 - 9 : التغيرات الكيموحيوية أثناء فترة تخمير الخضروات

المصدر : Reed , (1982) .

وينتج فى نهاية مرحلة التخمير خليط من الأحماض وأهمها وأكثرها وجوداً هو حامض اللاكتيك مع أحماض طيارة أخرى منها حامض الخليك وحامض البروبيونيك وخليط من الغازات منها ثانى أكسيد الكربون (الغاز الأساسى) مع كميات صغيرة من الكحول والمركبات المسؤلة عن النكهة بالإضافة إلى تفاعل الكحول مع الأحماض لإنتاج الإسترات المسؤلة أيضاً عن نكهة المنتج النهائى. وهذه الحموضة المتكونة بواسطة البكتريا المرغوبة تتحكم فى نظام التخمر عن طريق وقف التغييرات غير المرغوبة مثل التحلل اللاهوائى البروتينى للكرنب ونظراً لأن الميكروبات غير المرغوبة لا تنبط فى وجود تركيز ملح أقل من 5-7 ٪ لذلك

فالحموضة المتكونة هى المسئولة عن التحكم فى الميكروبات المسببة للفساد وليس الملح.

ومن أهم العوامل المسئولة عن نجاح أو فشل عملية التخليل هى درجة الحرارة، حيث أن درجة الحرارة المثلى للوصول إلى تخمر أمثل للكرنب هى21 °م وحدوث أى تغيير فى هذه الحدود يؤثر على جودة المنتج نظراً لتأثيرها على نشاط الفلورا المسئولة عن عملية التخمير وعموماً فدرجة الحرارة التى تتراوح بين 18 - 22 °م أكثر ملائمة لبدأ خطوة التخمير حيث أن مجموعة بكتريا Leuconostoc أكثر حساسية للحرارة كما أنها المسئولة عن بدأ التخمير. بينما درجة الحرارة الأعلى من22 °م تلائم نمو الـ Lactobacilli ، وبالرغم من أهمية هذه المجموعة لإنهاء خطوة التخمير إلا أن نشاطها فى أول مرحلة التخمير غير مرغوب وتقلل من جودة المنتج نظراً لتأثيرها الضار على ضعف نكهة الناتج النهائى.

وينصح القائمين على صناعة تخمير الكرنب بإستخدام بادئ يشبه المستخدم فى المنتجات اللبنية، وتستخدم هذه الطريقة على نطاق واسع فى أوروبا بينما لا تستخدم فى أمريكا وغيرها من البلاد. ومن أهم فوائد إستخدام البادئ هو تكوين الحموضة التى تثبط بكتريا التربة غير المرغوبة. فعند إستخدام بادئات اللبن الحامضى يكون الناتج النهائى ذو جودة مقبولة ولكن نكهة المنتج ليست أفضل من المنتج بالتخمير الطبيعى بواسطة الفلورا الطبيعية. وعند إستخدام البكتريا العصوية المنتجة للغاز مثل *L. brevis* وكذلك البكتريا العصوية غير المنتجة للغاز *L.plantarum* فإن نتيجة التخمر تكون غير مكتملة ويكون المنتج قابل للإصابة بالخمائر. وعند إستخدام سائل الكرنب المخلل كبادئ يعتمد جودة المنتج المخلل على ما يحتويه السائل من ميكروبات ويتم تقدير جودة السائل عن طريق تقدير الحموضة فيها فإذا كانت الحموضة 0.3 ٪ أو أكثر فإن الناتج يكون فقير الجودة عن التخمر الطبيعى وذلك يرجع لتثبيط البكتريا الكروية المسؤلة عن بدء عملية التخمر وفى نفس الوقت تسود البكتريا العصوية. أما إستخدام سائل كرنب مخلل (كبادئ) ذا درجة حموضة منخفضة 0.25 ٪ أو أقل فإن الكرنب المخلل الناتج يكون طبيعى.

ثانياً: الخيار المخـلل : Fermented cucumber

وهو عبارة عن الناتج المتخمر للخيار الطازج وكما هو متبع فى تخليل الكرنب فإن

البادئ يتكون من خليط من الفلورا الطبيعية للخيار. وفى الإنتاج الطبيعى للخيار المخلل فإن البكتريا المنتجة لحمض اللاكتيك خلال خطوات التخمير هى *L. brevis* *Pediococcus* وتعتبر *L. plantarum , Enterecocuss fecalis (S. faecalis),* *acidilactici , L. plantarum* أكثرها وجوداً أما الـ *L. brevis* فتعتبر غير مرغوبة نظراً لقدرتها على إنتاج الغاز بينما الـ *L. plantarum* تعتبر من أكثر الأنواع الأساسية لإنتاج المخلل كما هو الحال فى الكرنب المخلل.

ويجب مراعاة مواصفات الماء المستخدم فى تحضير المحلول الملحى فلا يستعمل إلا الماء المعامل بالكلور ويجب ألا يكون الماء المستخدم عسر لذلك فالملح المستخدم يجب أن يحتوى على أقل من 1 ٪ كربونات أو بيكربونات الصوديوم أو الكالسيوم أو المغنسيوم حيث أن هذه الأملاح تعادل الحموضة الناتجة عن التخمر اللاكتيكى وتضبح الظروف ملائمة لنمو البكتريا المحللة للبروتينات.

ونظراً لإنخفاض المحتوى السكرى للخيار مقارنة بالكرنب فإنه يفضل إستخدام بادئ منعاً لنمو ميكروبات أخرى كذلك قد يفضل إضافة سكر بنسبة 1 ٪ حتى تتوفر الظروف للتخمير المرغوب وخاصة فى الأنواع المنخفضة فى السكر.

ويجب مراعاة أن يكون المحلول الملحى كافى لتغطية الخيار ويجب اختبار تركيز الملح من وقت لآخر كما يجب ضخ المحلول الملحى من أسفل إلى أعلى (القاع إلى السطح) للتأكد من توحيد التركيز بالإضافة لذلك يجب إزالة أى نمو يحدث على السطح من فطريات أو خمائر حتى لا تسبب فساد المنتج نتيجة إستهلاك الحموضة المتكونة أثناء التخمير.

ثالثاً: الزيتون المخلل : Fermented olives

توجد أصناف مختلفة من الزيتون الأخضر تصلح للتخليل، وتختلف هذه الأصناف من بلد لآخر، فمثلاً فى أسبانيا يفضل أصناف الـ Sevillane , Manzanille ، بينما فى كاليفورنيا يفضل صنف Mission وفى مصر توجد أصناف عديدة مثل العزيزى والتفاحى والبلدى الشملالى والـ Mission والـ Manzanille . وتتبع الخطوات الأولى من أختيار الثمار وفرزها وتدريجها ومعاملة الثمار بالقلوى حيث ينقع فى محلول 1.6 - 2 ٪ ايدروكسيد

صوديوم أو بوتاسيوم تبعاً لنوع الزيتون على 21 - 24 م لمدة 12 - 14 ساعة وذلك للإزالة الجزئية للمواد المسئولة عن المرارة والطعم غير المستساغ للمستهلك مثل eleuropein يتبع ذلك إزالة القلوى بالنقع والغسيل ثم يعبأ فى براميل ويضاف له المحلول الملحى تركيزه 5 ٪ على درجة حرارة 28 - 30 م ونظراً للمعاملة بالقلوى التى يتعرض لها لابد من إضافة بادئ فى مرحلة التخمير مثل *L. mesenteroides* ، *P. acidilactici* التى تبدأ بها التخمير ثم يتبعها *L. brevis*، *L. plantarum* التى تلعب الدور المهم فى التخليل . وفى بداية عملية التخمير تتواجد كلاً من *L. mesenteroides* و *E. faecalis* فى التركيز المنخفض من الملح ثم تسود الـ *L. mesenteroides* فى الفترة الأخيرة من المرحلة الأولى. وفى نهاية المرحلة الوسطى والنهائية من التخمر تسود أنواع من L. plantarum غير المنتجة للغاز. كما توجد أنواع من *L. brevis* المكونة للغاز فى الفترة الأخيرة من المرحلة الوسطى والنهائية من التخمر بأعداد كبيرة لكنها لا تماثل فى العدد *L. plantarum* وقد وجد بعض الباحثين *P.acidilactici* فى المحلول الملحى للزيتون المخلل فى الفترة الأخيرة من المرحلة الأولى من التخمر وكذلك الفترة الأولى من المرحلة الوسطى من التخمر ثم يحدث لها بعد ذلك نقص سريع. ونظراً لأن معظم التخمرات تتم الآن بإستخدام محلول ملحى بتركيز 10٪ فإن الأنواع المنتجة للغاز من *L. brevis* لا تتواجد أثناء التخمر أما أنواع *L. plantarum* فمن المؤكد تواجدها فى مراحل التخمير المختلفة.

ويتكون خلال مرحلة التخمير العديد من الأحماض العضوية وتعتمد درجة الحموضة الناتجة على نوع الزيتون وتركيبه الكيماوى كذلك تركيز الملح فأستخدام تركيز منخفض يكون نمو وتكاثر الميكروبات سريع مما يؤدى بالتالى إلى سرعة تغيير الحموضة والـ (pH)وقد وجد أن الـ pH للمحلول الملحى للزيتون المخلل ينخفض من 7 إلى 4.6 ، كذلك ينخفض تركيز كلوريد الصوديوم من 8 ٪ إلى 5.5٪ بينما السكريات المختزلة ترتفع من الصفر إلى0.4 ٪ لذلك يكون تكوين الحموضة سريع فى 7 - 14 يوم الأولى من بداية التخمير. وبالرغم من زيادة الحموضة إلا أن قيمة الـ pH للمحلول الملحى يظل ثابت (4-4.5) وهذا يدل على وجود قوة منظمة فى المحلول كما وجد أن المحلول الطبيعى للزيتون المخلل يحتوى على حمض خليك وحمض لاكتيك فقط بينما غير الطبيعى يحتوى على أحماض (فورميك وبروبيونيك وبيوتيريك و سكسنيك) . بالإضافة إلى حمض اللاكتيك.

22 - 8 - 3 منتجات الحبوب المتخمرة : Fermented cereal products

تستخدم الحبوب المختلفة مثل الأرز والقمح والذرة فى إنتاج بعض الأغذية المتخمرة والتى تستخدم منذ زمن طويل فى العديد من البلاد.

أولاً: الكشك : Kishk

ويتم إعداده من خليط اللبن المتخمر مع دقيق القمح ذو إستخلاص مرتفع أو القمح السابق معاملته حرارياً preboiled. وهذا المنتج مرغوب فى الشرق الأوسط حيث يستخدم لتغذية الأطفال والكبار فى كل من سوريا ومصر والأردن وتختلف طريقة التصنيع من بلد لآخر.

وعموماً يوضع اللبن المتخمر فى وعاء مغلق لعدة أيام قليلة ثم يسحب السائل الناتج ويخلط الجزء المتخمر بالملح ويحضن مع دقيق القمح أو مع القمح المعامل حرارياً لأيام قليلة، ويجفف بعد ذلك الخليط فى جو ساخن أو شمسياً حيث يتميز بعدم إمتصاص الرطوبة من الجو ويمكن تخزينه فى أوعية مفتوحة لمدة 2 - 3 سنوات دون حدوث أى تغيير فيه ويتميز هذا المنتج بإنخفاض الـ pH له بعد الإسترجاع بالماء مما يجعله غير معرض للتلوث بالميكروبات المرضية أو المسببة للفساد.

وأحياناً يستبدل القمح المعامل حرارياً أو دقيق القمح بخبز حامضى أو قد يضاف للخليط قبل التخمير طماطم أو عجينة طماطم وفلفل أحمر أو بصل مفروم ثم يحضن.

ثانياً : الخبز ومنتجات المخابز : Bread and baked goods

يطبق التخمير فى أغلب منتجات الخبيز لغرض تحسين قوام المنتج ودرجة الحموضة والنكهة، وتستخدم سلالة *Saccharonyces cerevisiae* لغرض إنتفاخ العجين بمساعدة تكوين ثانى أكسيد الكربون الناتج وخفض الـ pH وإنتاج المواد المسؤلة عن النكهة والطعم مثل الأحماض الطيارة والكحولات والألدهيدات.

ويستخدم على نطاق تجارى فى إنتاج الخبيز فى مصر خميرة الخباز المنتجة فى صورة خميرة مضغوطة أو خميرة جافة نشطة ناتجة من سلالة *S.cerevisiae*. وقد يستخدم فى بعض أنواع الفطائر والبسكويت مواد كيماوية بديل للخميرة يطلق عليها البعض الخميرة الصناعية وهى عبارة عن مواد كيماوية فى صورة مسحوق يطلق عليها تجارياً بيكنج بودر

تتكون من 30 ٪ بيكربونات صوديوم مع أحد الأملاح الحامضية مثل بيروفوسفات الصوديوم الحامضية – فوسفات أحادى الصوديوم أو غيرها من المواد) . ويشترط فى منتج الخميرة المستخدم لهذا الغرض أن تكون نشطة وتنتج كمية كبيرة من ثانى أكسيد الكربون فى وقت قصير. وتختبر كفائتها عن طريق تقدير حجم ثانى أكسيد الكربون الناتج عند ضغط ثابت أو تقدير الضغط الناتج عند ثبات الحجم.

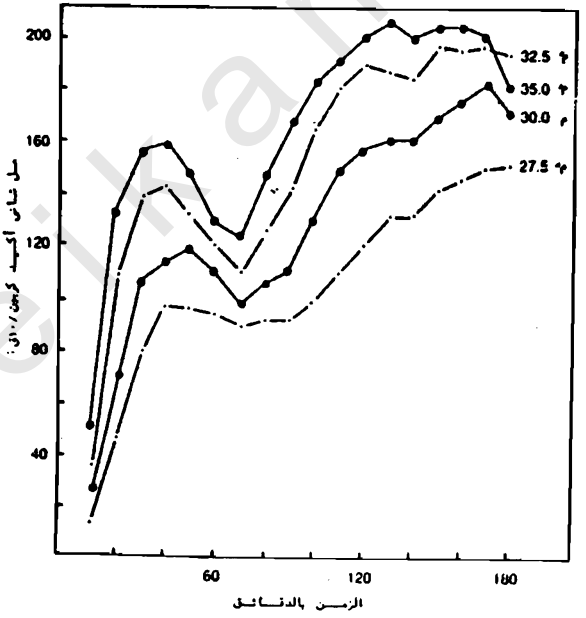
ومن أهم العوامل المؤثرة على نشاط الخميرة فى العجين درجة الحرارة حيث أن معدل التخمير يزداد مع الأرتفاع فى درجة الحرارة إلى حد معين من الأرتفاع ثم تبدأ فى الإنخفاض عند 40 °م فأكثر. ويعزى الأرتفاع الناتج فى رغيف العيش أثناء الخبيز oven-spring إلى ثانى أكسيد الكربون الناتج عن التخمر بالإضافة إلى كمية ثانى أكسيد الكربون الذائب فى الماء المستخدم فى العجين وإلى تأثير الحرارة على حجم الغاز. ويؤدى ارتفاع درجة الحرارة أثناء الخبيز إلى قتل الخلايا الخضرية للميكروبات أولاً ثم الجراثيم لأنها أكثر مقاومة.

ويكون نشاط الخميرة فى التخمير ثابتا عند درجة pH 4 - 7 وهذه الدرجة من الحموضة المعتادة لمعظم أنواع الخبيز بإستثناء العجائن الحامضية . وللخميرة مجال متسع من درجة الحموضة الأمثل للتخمير سواء فى العجين أو محلول التخمير حيث أن عمليات هدم السكريات يتم داخل الخلية ولذلك فإن الكفاءة التخميرية لا تتأثر نسبياً بالتغييرات الخارجية فى درجة الحموضة كما وجد أن درجة تأثير درجة الحموضة تتوقف على نوع السكر المستخدم فى التخمير فقد وجد أن المالتوز يتأثر خارج مدى pH من 4 - 6 على العكس من الجلوكوز والذى لا يتأثر تخمره.

ويلاحظ وجود الكحول فى الخبز بعد خروجه من الفرن مباشرة فى رائحة اللبابة. ومن الأبحاث وجد أن كمية الإيثانول تصل إلى نسبة 0.8 ٪ على أساس وزن الدقيق، وتتوقف نسبة الكحول بالإضافة إلى درجة الحرارة المستخدمة فى الخبيز على حجم الرغيف، طريقة التبريد، نوع الخبز وطريقة العجن. حيث تصل فى الطريقة الإسفنجية spong dough إلى3 ٪ بينما فى الطريقة المباشرة straight dough يحتوى على1.5 ٪ فقط على أساس وزن المواد الصلبة فى الرغيف.

ويتكون عادة العجين من دقيق وماء وخميرة وملح ويعتمد التخمر تماماً على قابلية

السكر المتكون فى الدقيق وكذلك المالتوز الناتج بتأثير الإنزيمات على النشا وبالرغم من أن كمية السكر الموجودة بالدقيق صغيرة إلا أنها المصدر الوحيد للتخمر فى بدأ عملية التخمير وهذه النسبة تمثل 0.3 - 0.5 ٪ فقط من الكربوهيدرات الكلية بالدقيق وبالرغم من صغرها إلا أنها تكفى لبدء عملية التخمير ولتشجيع إنزيمات الخميرة المسؤلة عن تخمير المالتوز للبدأ فى التفاعل. وتتخمر سكريات الجلوكوز والفركتوز والسكروز والمالتوز بسرعة بواسطة خميرة الخباز، ومن المعروف أن هذه السكريات تتخمر عن طريق دورة EMP ويلاحظ أن السكريات الأحادية تتخمر دون أن تمر بفترة تحضيرية induction period حيث أن الإنزيمات المسؤلة عن تحللها من نوع الإنزيمات التكوينية (الأساسية)constitutive enzyme وعلى العكس من ذلك فإن إنزيم الجلوكوسيديز glucosidase المسؤلة عن تحلل المالتوز من النوع المحفز adaptive (Inducible)enzyme لذلك يلاحظ وجود فترة تحضيرية induction period قبل تخمر سكر المالتوز كما هو موضح فى شكل رقم22-10 ، كما يلاحظ فى الشكل تأثير درجة الحرارة على سرعة التخمير.



شكل رقم 22-10 : معدل تخمير السكريات فى العجين عند درجات حرارة مختلفة

المصدر : Reed , (1982) .

ويوضح هذا المنحنى أن عملية التخمير تبدأ بالسكريات الأحادية مباشرة والموجودة فى الدقيق وهذه تستغرق 30 دقيقة ثم تمر عملية التخمير بفترة تحضيرية لتبدأ فى تخمير المالتوز الناتج من نشا الدقيق بفعل إنزيمات الأميليز وتستغرق من 60 : 90 دقيقة ثم يحدث إنخفاض سريع بعد ذلك. وتأثير السكريات على صفات الخبز الناتج ترجع لتركيز السكر المستخدم وليس لنوع السكر. ومن المعروف أن التركيزات المرتفعة للسكريات والأملاح غير العضوية وغيرها من المواد الصلبة الذائبة لها تأثير مثبط على التخمير وذلك يرجع لفعل الضغط الأسموزى على الخلايا.

ولتخمير أكبر كمية من السكر فى أقصر وقت تحتاج إلى كمية أكبر من الخميرة المستخدمة فى التخمير، ولكن الذى يتحكم فى مدة التخمير الفترة التحضيرية التى تمر بها الخميرة قبل أن تصل إلى أقصى درجة من التخمير. وعادة لا يستخدم أكثر من 3٪ خميرة مضغوطة على أساس وزن الدقيق. ومن تجارب أخرى عند إستخدام 2.5 ٪ خميرة تم الحصول على أحسن مواصفات للخبز بينما عند مضاعفة هذه النسبة أو خفضها إلى النصف كانت المواصفات غير مقبولة سواء من جهة اللون أو القوام أو النكهة. ويختلف تركيز الخميرة المستخدمة حسب نشاطها.

كما وجد أن كلوريد الصوديوم المستخدم فى العجين له دور فى التأثير على كفاءة التخمير للخميرة، فقد وجد أن تركيز الملح 2٪ يثبط تخمير كل من الجلوكوز، الفراكتوز، السكروز والمالتوز ولكن الأخير هو أكثرهم تثبيطاً. وقد وجد أن تركيز 1.5 ٪ كلوريد صوديوم على أساس وزن الدقيق لا يسبب تأخير فى إنتاج الغاز فى العجين – بينما تركيزه 2.0-2.5٪ كان تأثيره المثبط واضح على إنتاج ثانى أكسيد الكربون فى العجين. وتؤثر المعادن والفيتامينات والمواد النيتروجينية على عملية التخمير اللاهوائى التى تتم فى العجين أو محلول التخمير وفى فترات التخمير القصيرة لا تحتاج إلى إضافتها بينما فى عمليات التخمير التى تتم فى مدة طويلة فإن إضافة هذه المواد تخفض من المدة اللازمة للتخمير. وبمقارنة كفاءة التخمير فى العجين وجد أن إضافة مصدر النتروجين للعجين له تأثير جوهرى فى رفع كمية الغاز الناتج وخفض وقت التخمير. وتجارياً يضاف الـ food yeast إلى العجين كمصدر للنيتروجين كما أنها تقوم بدور المواد المؤكسدة وتضاف عادة بنسبة 0.5٪ على

أساس وزن الدقيق وقد تزداد أو تنخفض هذه النسبة تبعاً لاحتياج الدقيق من المواد المؤكسدة مع مراعاة المواصفات الحسية للمنتج.

دور الخميرة فى صناعة الخبيز : Function of yeast in bread making

للخميرة ثلاث وظائف رئيسية فى صناعة الخبز.

1- **نضج العجين** Dough maturing

هناك عدة تغييرات تحدث فى العجينة بواسطة الخميرة توصف بأنها عمليات نضج أو تسوية للعجينة والتى تؤثر فى الصفات الريولوجية (المطاطية والمرونة) للعجينة وهى المسؤلة فى النهاية عن إنتاج خبز ذو مواصفات جيدة. فمثلاً يعتبر الكحول وثانى أكسيد الكربون من أهم نواتج عملية التخمير بواسطة الخميرة، فالكحول يكون قابل للإمتزاج بالماء وعندما تتكون كميات محسوسة منه يؤثر فى الطبيعة الغروية لبروتينات الدقيق وبعض من ثانى أكسيد الكربون يذوب فى الماء الموجود فى العجينة ويكون حمض الكربونيك الضعيف ويخفض الـ pH كما يساعد على إنتفاخ العجينة نتيجة لتمدد الغاز.

وأحياناً تضاف الأمونيا فى صورة كبريتات أو كلوريد أمونيوم للعجينة كغذاء للخميرة تستهلك بواسطة خميرة *S. cerevisiae* مسببة تكوين حمض الكبريتيك أو حمض الهيدروكلوريك وهذه الأحماض بجانب حمض الكربونيك تعمل على خفض الـ pH الذى ينعكس على التأثير الملموس فى إمتصاص الجلوتين للماء وإنتفاخه وكذلك على معدل نشاط الإنزيمات فى العجينة وتفاعلات الأكسدة والإختزال والعديد من التفاعلات الكيماوية. كما أن الإنزيمات المختزلة reductases التى تنتجها الخميرة تؤثر أيضاً على الصفات الريولوجية للعجين.

2- **الرفـع** Leavening

تنتج الخميرة المضافة لعجائن الخبز غاز ثانى أكسيد الكربون ويرجع ذلك لهدمها للسكريات البسيطة فى الدقيق والسكريات المضافة كأحد مكونات تركيب العجينة كما سبق الشرح.

ويؤدى تطور إنتاج غاز ثانى أكسيد الكربون فى العجين بفعل الخميرة إلى إنتاج خبز ذو مسامية عالية ومرغوبة وترجع هذه المسامية أيضاً إلى مقدرة العجينة على الأحتفاظ بالغاز وهذا يرجع إلى خصائص الغشاء المتكون من جلوتين القمح والذى له القدرة على الأحتفاظ بالغاز، ولغاز ثانى أكسيد الكرون المتولد داخل العجينة مصدرين أحدهما فقاعات الهواء المحبوسة داخل العجينة أثناء الخلط والآخر ثانى أكسيد الكربون الناتج من نشاط الخميرة.

3- **تطور النكهـة :** Flavour development

يتميز الخبز الطازج بنكهة محببة تعتبر صفة هامة من صفات إستهلاك الخبز وتنتج هذه النكهة من مصدرين أساسيين وهما التخمر بواسطة الخميرة والتلون البنى للقشرة.

ونادراً ما يؤخذ فى الإعتبار دور الخميرة فى نكهة الخبز الناتج ومع ذلك فإن العجائن التى تحتوى على نسب مرتفعة من الخميرة تعطى منتجات مخابز لها نكهة الخميرة أو نكهة مطبوخة خفيفة. ولقد أتضح أن الثيامين والثيامين ثنائى الفوسفات من مركبات النكهة الرئيسية فى الخميرة التى تساهم فى إنتاج نكهة غير مرغوبة فى الخبز. وأثناء عملية الخبيز تتطاير بعض مركبات النكهة ويتفاعل البعض الآخر مع الأحماض الأمينية وبعض المركبات الأخرى فى العجينة لتعطى نكهة الخبز وتعزى هذه النكهة غالباً إلى استرات الأحماض العضوية والكحولات ومركبات الكربونيل، ولم تنجح محاولات توحيد نكهة الخبز عن طريق دمج المركبات السابقة فى العجينة. ومن المحتمل أن تكون بكتريا حامض اللاكتيك التى وجدت فى العجائن لها دور مشترك مع الخميرة لإنتاج النكهة كما أن بعض الخمائر الأخرى الملوثة بخلاف الـ *S. cerevisiae* تشترك أيضاً فى النكهة المميزة. كما أتضح أن ناتجات هدم بروتينات الدقيق تلعب دور هام فى إعطاء نكهة ولون مميز للخبز. أما إنزيمات الخميرة المحللة للبروتين فتعمل على تحليل الببتونات والبولى ببتيدات لبروتين القمح من أجل النمو وجزء من تلك الناتجات يتفاعل مع السكريات لإعطاء نكهة مرغوبة أثناء الخبيز.

وتتأثر درجة تلون القشرة الخارجية للخبز باللون البنى بالمواد التى تؤثر على نشاط

الخميرة فى الخبز كما أن جزء من النكهة المتكونة على قشرة الخبز يتكون أثناء عملية الخبيز ثم تنتشر وتمتص داخل اللبابة الداخلية.

22 - 8 - 4 منتجات اللحوم المتخمرة : Fermented meat products

تستخدم الميكروبات فى اللحوم المتخمرة بإحدى الطرق الرئيسية الآتية:

* تخمر طبيعى natural fermentation والذى يعتمد على توظيف الفلورا الطبيعية الموجودة باللحوم للقيام بعملية التخمر.

* التلقيح بالنقل back - inoculation ويتضمن ذلك نقل جزء من اللحوم المتخمرة من دفعة سابقة إلى دفعة تالية.

* مزارع البادئات starter cultures حيث تلقح اللحوم المطلوب تخميرها بسلالة نقية أو أكثر من بكتريا حامض اللاكتيك.

ويجب أن يتوافر فى البادئ المستخدم فى صناعة اللحوم المتخمرة ما يلى : -

1- أن تكون للميكروبات القدرة على مقاومة الأملاح والنيتريت.بحيث تنمو عند تركيز 6٪ ملح NaCl و100 جزء فى المليون نيتريت.

2- أن تنمو فى مدى من درجات الحرارة بين 27 - 43 °م وذات درجة مثلى 32°م تقريباً.

3- لا تنتج مركبات ذات نكهة غير مرغوبة ولا تفرز مركبات سامة كجزء من عمليات التمثيل.

4- يفضل الأنواع المتجانسة التخمر homofermentative من بكتريا حامض اللاكتيك حيث أن الأنواع غير متجانسة heterofermentative التخمر تنتج غاز ومواد مكسبة لنكهة قد تكون غير مرغوبة .

5- يجب أن تكون بادئات حامض اللاكتيك غير محللة للبروتين أو الدهن.

والأجناس التجارية التى تُستخدم كبادئات فى تخمرات اللحوم يمكن إجمالها فيما يلى :

Lactococcus،Enterococcus ،Lactobacillus ،Leuconostoc ،Pediococcus

. Vagococcus ، Micrococcus ،

وتعتمد أبحاث تكنولوجيا صناعة اللحوم المتخمرة على بعض الصناعات التخميرية القائمة فعلاً مثل منتجات الألبان المتخمرة ولكن اللحوم تعتبر وسط أكثر تعقيداً وصعوبة فى الدراسة عن الألبان حيث أن اللحوم غير منتظمة الشكل وهى بالطبع لا تتميز بالطبيعة السائلة مثل الألبان ، ومن ناحية أخرى فإن دراسة المزارع النقية فى اللحوم المتخمرة تعتبر صعبة جداً حيث أن المادة الخام (اللحوم) المستخدمة تكون غير مبسترة أو معقمة كما أنه لا يمكن إزالة التأثيرات العشوائية للميكروبات الملوثة للحوم حيث تحتوى اللحوم على عدة ملايين من الميكروبات الملوثة لكل جرام.

وتتركز أبحاث تكنولوجيا اللحوم المتخمرة فى إتجاهين واللذان يتحققان فى وقت واحد حيث يستخدم الـ *Pediococcus acidilactici (P. cerevisiue.)* والتى يتميز بإنتاجها العالى من حامض اللاكتيك بينما توظف الـ *Micrococcus aurantiacus.* كأداة للتحكم فى إختزال النترات إلى نيتريت وبالتالى التأثير على التسوية وكذلك الحد من نمو الـ *Clostridium botulinum* .

وقد إستخدم الـ *Lactobacillus sp.* لتثبيط نمو كل من *E. coli* والـ *Cl.botulinum* وإنتاجها للتوكسين. كما أن للـ Lactobacilli فعل مضاد للسالمونيلا فى اللحم المفروم. ويمكن تنمية الـ *Pediococcus pentosaceus.* فى اللحم البقرى المفروم فى وجود 0.5٪ جلوكوز وذلك لتثبيط كل من Pseudomonas ، والـ Salmonella وغيرها من الـ Enterobacteriaceae وميكروب *Listeria monocytogenes* . وفى السجق يمكن إستخدام الـ *L. plantarum* ، *P. acidilactici* لتثبيط نمو وإنتاج التوكسين enterotoxin بواسطة ميكروب *Staphylococcus aureus* وفى السجق المتخمر الجاف وجد أن الـ *L. sake* لها تأثير قاتل للبكتريا الموجبة لجرام والـ *Staph. aureus* ، *List. monocytogenes* ، *L.fermentum*. وبصفة عامة يمكن القول أن تثبيط الميكروبات المرضية والمسببة للفساد فى السجق المتخمر يرجع إلى إنتاج حامض اللاكتيك (خفض الـpH) وكذلك خفض النشاط المائى A_w .

ويعتبر السجق المتخمر هو أكثر منتجات اللحوم المتخمرة إنتشاراً وشيوعاً والذى يقسم إلى السجق النصف جاف (يحتوى على 35 - 45 ٪ رطوبة) والسجق الجاف (يحتوى على أقل من 30 ٪ رطوبة).

22 - 8 - 5 منتجات الأسماك المتخمرة : Fermented fish products

تُستخدم الأسماك كمادة خام للتخمير لإنتاج منتجات مختلفة مفضلة فى بعض البلاد حيث تنتج مستخلصات الأسماك كفاتحات للشهية. ومن أشهر هذ المنتجات صلصة الأسماك Fish sauce وهو من أحسن المأكولات فى شمال شرق آسيا حيث تعرف بأسماء عديدة منها nuoc - mam (فيتنام)، ngapi (كامبوديا)، nampla (إندونسيا) ket-jap-ikan (بورما).

وإنتاج بعض هذه المنتجات يتلخص فى إضافة ملح إلى السمك غير المنزوع الأحشاء بمعدل (3 سمك : 1ملح) لجعل الظروف ملائمة لنمو بعض الميكروبات المرغوبة وتثبيط الميكروبات المسببة للتسمم ويوضع فى أوعية خاصة للتخمير ويتم لحامها وتترك مدة لا تقل عن ستة شهور حتى يحدث تحلل للسمك . ثم يجمع السائل الناتج ويرشح وينقل لوعاء آخر ويترك فى الشمس لحدوث تسوية به لمدة 1 - 3 شهور ويتميز الناتج بلون بنى غامق ونكهة ورائحة مميزة.

فعند دراسة الناتج المتخمر للأسماك وجد أن درجة الـ pH تتروح بين 6.2 - 6.6 من بداية إلى نهاية التخمير ونسبة كلوريد الصوديوم 30 ٪ بعد12 شهر تخمير ، هذه التغييرات مع إرتفاع نسبى فى درجة حرارة التخمير تؤدى إلى نمو وسيادة الميكروبات المحبة للملوحة والهوائية المتجرثمة فى المنتج بينما أعداد Micrococci ، Stapphylococcus ، تكون أقل وهذه تكون المسؤلة عن إنتاج النكهة فى المنتج. بالإضافة إلى أن جزء من التحلل الذى يحدث يرجع بدون شك إلى إنزيمات السمك المحللة للبروتين ومع أن درجة الحرارة والحموضة لعملية التخمير تناسب أعداد كبيرة من الميكروبات غير المرغوبة إلا أن درجة تركيز الملح من 30-33 ٪ هى التى تعطى صفة الأمان للمنتج.

وهناك أحد منتجات الأسماك المتخمرة الأخرى يطلق عليه معجون السمكfish paste

وهو منتج منتشر فى شمال شرق آسيا ولكن دور التخمر الميكروبى فيه يكون محدود ويوجد منه أنواع مختلفة تسمى بأسماء عديدة مختلفة من بلد لآخر.

22 - 8 - 6 منتجات البقوليات المتخمرة : Fermented legume products

أستخدمت بقوليات مختلفة فى إنتاج العديد من المنتجات المتخمرة خاصة فى دول شرق أسيا، وتلعب التقاليد وذوق المستهلك دوراً هاماً فى إنتاجها حيث أصبحت مكوناً هاماً فى الوجبة الغذائية لهذه البلاد ومما يشجع إنتاجها أنها تستخدم كفاتحات شهية ومصدر للبروتين والفيتامينات والطاقة بالإضافة إلى إستخدام الخامات الزراعية التى لا تستهلك فى الصورة الطازجة لها مثل فول الصويا Soy beans وعجينة الفول السودانى peanut cake وغيرها من البقوليات .. وفيما يلى أهم الأغذية المتخمرة التى يستخدم فى إنتاجها فول الصويا.

أولاً : صلصة الصويا : Soy sauce

يعتبر من أهم الأغذية الشرقية المتخمرة إستهلاكاً، وهو عبارة عن سائل بنى غامق مملح له نكهة تشبه نكهة مستخلص اللحم ويستخدم كفاتح شهية أو يضاف للحوم والخضروات والأغذية البحرية لتحسين نكهتها وينتج هذا المنتج على مرحلتين الأولى يتم فيها إنتاج الـ Koji حيث ينتج بعد تلقيح خليط من فول الصويا والقمح المجروش بنسبة 1:1 بواسطة فطر *Aspergillus oryzae* وذلك بعد إجراء عدة معاملات على فول الصويا وحبوب القمح كما هو موضح بالشكل رقم 22 - 11 والغرض من إضافة القمح هو خفض نسبة النيتروجين الكلى فى صلصة الصويا، وخلال فترة التحضين على درجة حرارة الغرفة لمدة ثلاث أيام ينمو فيها فطر الـ *A. oryzae* ويفرز إنزيمات المحللة للبروتين والمحللة للنشا والتى تؤدى إلى إنتاج كميات كبيرة من الأحماض الأمينية وكذلك السكريات القابلة للتخمر (وهذه الخطوة تشبه خطوة إستخلاص المولت فى إنتاج البيرة). أما المرحلة الثانية فى إنتاج صلصة الصويا فتسمى بمرحلة تكوين الـ moromi وذلك عن طريق إضافة محلول ملحى بتركيز 17-19 ٪ للمنتج المتخمر بمعدل 2 لتر / كجم ويترك فترة تحضين على درجة حرارة الغرفة لمدة (تصل إلى سنة) ويمكن إضافة مزارع من الخميرة والبكتريا لإسراع عملية تخمر

المستخلص وتحسين نكهة المنتج النهائى ، وأتضح أن سلالات الـ *Torulopsis sp.*، *Pediococcus-soyae*، *Saccharomyces rouxii* . تكون مسؤلة عن تحسين النكهة وينخفض درجةpH المحلول المتخمر من 6.5 - 7.0 إلى 5.5 وذلك بفعل بكتريا حامض اللاكتيك ثم يبدأ التخمر بالخميرة ويجب إجراء تهوية فى المراحل الأولى من التخمر للمساعدة على نمو الخميرة ومنع نمو الميكروبات اللاهوائية غير الرغوية والمحافظة على ثبات الحرارة والتخلص من ثانى أكسيد الكربون. بعد إنتهاء عملية الإنضاج يجرى ضغط للناتج ويتم بسترة السائل الناتج على درجة 70-80 °م لوقف نشاط الميكروبات والإنزيمات ويتم الترشيح للتخلص من الرواسب ويعبأ فى زجاجات ويسوق وأحياناً قد يضاف حمض بنزويك كمادة حافظة.

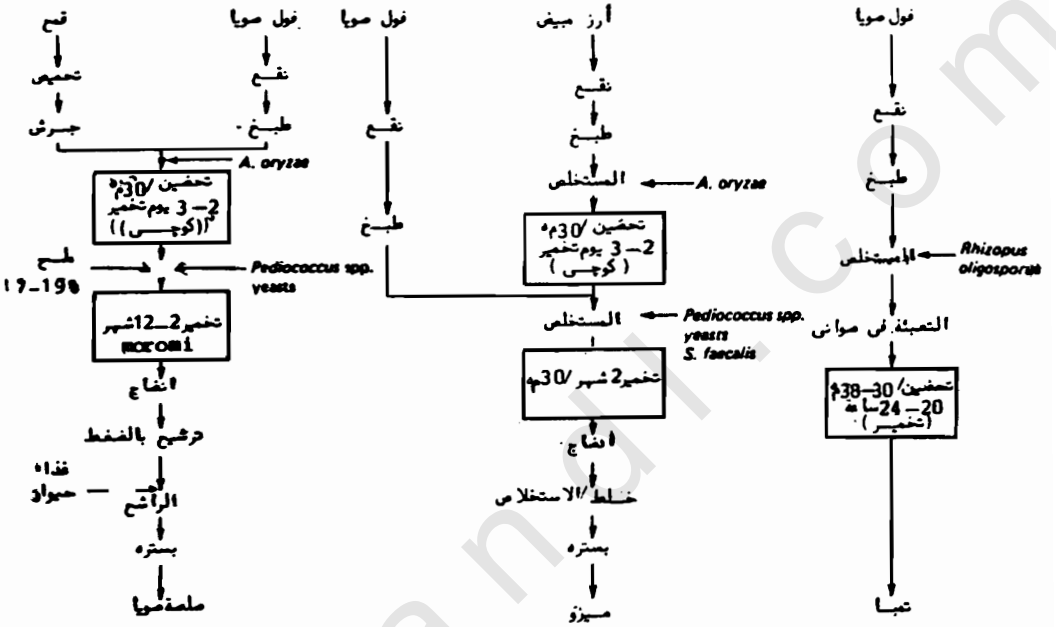
ثانياً : الميــزو : Miso

يتم إنتاج هذا المنتج بتخمير فول الصويا المطبوخ بعد خلطه مع الـ rice koji والملح وتستخدم فى التلقيح سلالات من الفطريات والخمائر والبكتريا كما هو موضح بالشكل رقم 22-11 وتؤثر طريقة التخمير فى إنتاج ثلاث أنواع من الميزو منها الأبيض white miso ومدة تخميره 2-4 أيام والأصفر light yellow miso مدة تخميره 30 يوم أما الميزو الأحمر red miso فيحتاج إلى 60 يوم تخمير. وفى بعض البلاد ينتج الميزو بإستخدام رقائق فول الصويا منزوع الدهن وإجراء تخمير لمدة ثلاثة شهور مع ملاحظة أن الـ koji المستخدم فى هذه الطريقة ينتج بإستخدام *A. oryzae* على الذرة أو القمح أو الشعير أو البطاطس أو البنجر أو الموز.

ثالثاً : التيمبــا : Tempeh

يتم إعداد هذا المنتج عن طريق تخمير فول الصويا منزوع القشور والمطهى جزئياً بواسطة فطر *Aspergillus oligosporus* . وتختلف طريقة إنتاجه من بلد لآخر، ويمثل هذا المنتج مصدراً جيداً للبروتين فى الوجبة الغذائية وبعد نمو الفطر وتحضينه على 30-35 °م لمدة 21-24 ساعة يصبح هذا المنتج فى صورة عجينة ويرتفع الـ pH خلال فترة التخمير من5 إلى 7.5 ويقطع هذا المنتج إلى شرائح ويغمر فى محلول ملحى ويحمر فى الدهن أو يقطع إلى قطع ويجفف ويستخدم فى عمل الشوربة ويؤدى التخمير إلى خفض وقت الطبخ

من6 ساعات إلى 10 دقائق وذلك على درجة حرارة100 م بالإضافة إلى إختفاء النكهة المميزة لفول الصويا الخام وترتفع نسبة الفيتامينات خاصة الريبوفلافين ، B_{12} والنياسين.



شكل رقم 22-11 : رسم تخطيطى لإنتاج بعض منتجات البقوليات المتخمرة .

المصدر : Reed, (1982) .

22 - 8 - 7 منتجات أخـــرى : Miscellaneous products

أولاً: بذور البن : Caffee beans

تحيط بذور البن طبقة رقيقة لزجة تسمى الغلاف اللزج mucilaginous envelop يجب إزالتها قبل تجفيف بذور البن وتحميصها، وحيث أن هذه الطبقة معظمها مواد بكتينية لا تزال بالتقشير الميكانيكى لذلك يستخدم لإزالتها التخمير الطبيعى بواسطة الميكروبات الموجودة عليها مثل Bacillus وبعض الأعفان المحللة للبكتين مثـل Fusarium ، Asper

Saccharomyces marxianus, S. bayanus، *S. ellipasoideus*، ، حيث تتميز هذه الميكروبات بقدرتها على إفراز إنزيمات محللة للمواد البكتينية ويلاحظ أن الميكروبات فى هذه الحالة غير مسؤلة عن النكهة والرائحة.

ثانياً: بذور الكاكاو : Cocoa beans

تستخدم بذور الكاكاو فى إنتاج المسحوق المستخدم فى إنتاج الشيكولاته بعد إستخلاص البذور من الثمرة ويتم التخمير فى صناديق أو تانكات كبيرة لمدة تتراوح من 2-12 يوم تبعاً للنوع والحجم. وخلال مرحلة التخمير يحدث إرتفاع فى درجة الحرارة إلى 45-50°م وينفصل سائل يتبع ذلك تجفيف بالهواء أو الشمس ينخفض خلاله المحتوى الرطوبى إلى أقل من 7.5 ٪ ويجرى بعد ذلك تحميص لإنتاج النكهة المميزة للشيكولاته وتتم مرحلة التخمير على مرحلتين الأولى يتم فيها تحويل السكريات من اللب الحامضى (3.6 pH) إلى كحول . والمرحلة الثانية يتأكسد فيها الكحول إلى حامض خليك. ومن نتائج التخمر فى الكاكاو البرازيلى وجد أن الفلورا فى أول أيام التخمير عند21°م تتكون من خميرة بصفة أساسية وفى اليوم الثالث ترتفع درجة الحرارة إلى49°م وبالتالى ينخفض عدد خلايا الخميرة بحيث لا يزيد عن 10 ٪ من العدد الكلى للفلورا، وبعد سبعة أيام يرتفع الـpH من 3.9 إلى 7.1 ويسبب إرتفاع درجة الحرارة ونقص السكريات القابلة للتخمر وإرتفاع نسبة الكحول ينخفض عدد خلايا الخميرة وتتلاشى . بالإضافة إلى حدوث إنخفاض بعض الشئ فى بكتريا حامض الخليك بسبب إرتفاع درجة الحرارة، وعموماً فإن الخميرة وبكتريا حامض الخليك هما أهم الميكروبات المسؤلة عن التخمر. ومن الخمائر المقاومة للحرارة *Candida krusei* وتكون هى السائدة بعد اليوم الثانى. كذلك توجد أعداد كبيرة من *Candida mycoderma* ، *Geotrichum candidum*، وهى تتميز بقدرتها على تحليل البكتين، كذلك يوجد *Acetobacter spp. acid bacteria*، *Heterofermentative lactic* ، وهى المسؤلة عن إنتاج النكهة المميزة للناتج المحمص. وقد وجد أن الإنزيمات الداخلية للخميرة التى تنفرد خارج الخلية بعد حدوث تحلل ذاتى لها هى المسؤلة عن إنتاج المركبات المولدة للنكهة فى الشيكولاته كما أن حمض الخليك يجعل الغشاء الرقيق المحيط بالحبة منفذ لإنزيمات الخميرة. كما أن النكهة المميزة لا تظهر إلا بعد عملية التحميص ومن ناحية أخرى فإن التحميص

بدون إجراء عملية التخمير لا ينتج هذه النكهة المميزة.

22 - 9 المواد المضافة للأغذية : Food additiues

تُستخدم الصناعات الميكروبية فى إنتاج بعض المواد المضافة للأغذية مثل الأحماض الأمينية الفيتامينات والمنكهات والصبغات، وهناك فروق واضحة بين المواد المضافة للأغذية التى يتم إنتاجها بالتخمير وتلك التى يتم تخليقها كيماوياً. وفيما يلى نبذة مختصرة عن إنتاج المواد المضافة بالتخمير.

22 - 9 - 1 الأحماض الأمينية : Amino acids

يتم إنتاج الأحماض الأمينية بإستخدام تكنولوجيا التخمر المباشر وطريقة التحول الحيوى بالإنزيمات وإستخلاص البروتين بالتحليل المائي والتخليق الكيماوى. وهناك العديد من الإستخدامات للأحماض الأمينية فى التغذية أو كمواد مضافة مكسبة للنكهة فى الصناعات الغذائية (66٪ من الإنتاج) وصناعة الأعلاف (31٪ من الإنتاج) ومستحضرات التجميل الطبية والصناعات الأخرى (3٪ من الإنتاج).

وتعتبر السلالات الميكروبية لأجناس Brevibacterium ، Corynebacterium لها دور هام ورئيسى فى إنتاج الأحماض الأمينية بالتخمير . ويعتبر التطوير والتحسين فى إستخدام البيئات والمزارع الميكروبية من أهم العوامل المؤثرة فى نجاح إنتاج كميات كبيرة من الأحماض الأمينية على نطاق تجارى هو إستخدام الطفرات.

أولاً : إنتاج حامض الجلوتاميك : Glutamic acid production

تم إكتشاف خواص النكهة والطعم المميز لجلوتامات الصوديوم فى اليابان مع بداية القرن العشرين. يبلغ الإنتاج العالمى السنوى من جلوتامات الصوديوم حوالى400 ألف طن والمنتجة بواسطة التخمير عن طريق بكتريا Corynebacterium glutamicum حيث من الضرورى توفير مصدر مناسب للنيتروجين مثل أملاح الأمونيوم. ويستخدم المولاس أو المواد النشوية كمواد خام فى الإنتاج التجارى لحامض الجلوتاميك. ويمكن لتلك البكتريا أن تستفيد أيضاً من اليوريا كمصدر للنيتروجين الضرورى لها. ويجب أن يكون مستوى تركيز أيون الأمونيوم مناسب (منخفض المستوى فى وسط التفاعل) حيث أن المستوى العالى من

الأمونيوم غير مرغوب فيه لتأثيره الضار على نمو الخلايا الميكروبية وإنتاج حامض الجلوتاميك، كذلك تتجه درجة الـ pH للوسط إلى الإنخفاض نتيجة لإفراز الخلايا البكتيرية للجلوتامات نتيجة لعملية تمثيل الأمونيوم ودرجة الـ pH المثلى للتخمر تبلغ من 7 - 8 .

وتتطلب عملية التمثيل الحيوى لإنتاج الجلوتامات بطريقة هوائية توفير غاز الأكسجين خلال عملية التخمر وتحتاج البكتريا المنتجة للجلوتامات بواسطة الظروف الهوائية إلى مادة البيوتين biotin لكى تنمو حيث يتم إنتاج أكبر كمية من الجلوتامات عند تركيز 0.5 ميكروجرام بيوتين / جم فى الخلايا الميكروبية، بينما يؤدى وجود الزيادة من البيوتين إلى النمو الغزير للبكتريا وإضعاف إنتاج الجلوتامات.

ثانياً : إنتاج حمض الليسين : Lysine acid production

يُعتبر الليسين حامض أميني أساسى لتغذية كلاً من الإنسان والحيوان وتعتبر الحبوب عموماً فقيرة فى محتواها من حامض الليسين ويتم إنتاج 90 ألف طن متري من الليسين سنوياً حيث يتم إنتاجه بالتخمير المباشر بإستخدام طفرات خاصة لبكتريا *Corynebacterium glutamicum* وكذلك هناك طريقة تخمير أخرى تتمثل فى التخمير بواسطة بكتريا *Brevibacterium flavum* بإستخدام طريقة التحول البيولوجى لمركب aminocaprolactan - الذى تم إنتاجه بالتخليق الكيماوى إلى الحامض الأمينى ليسين L. lysine وذلك بكميات تجارية.

وتتم عملية التخليق البيولوجى لمادة الأسبرتات aspartate اللازمة لإنتاج حامض الليسين من خلال مركب الأوكسالوأسيتات oxaloacetate المتكونة من خلال دورة كربس. ويؤدى وجود الزيادة من البيوتين إلى تثبيط إنتاج الجلوتامات . ويتم تخليق المركب D,L, α - Amino caprolactum كيماوياً من الهكسان الحلقى Cyclohexane والذى يعتبر المادة الخام لإنتاج الليسين بواسطة عملية التحويل البيولوجى بواسطة إنزيم 1 - α - amino caprolactum hydrolase الذى يعمل على تحويل المركب l-amino caprolactum إلى الليسين L- lysine بينما يعمل إنزيم racemase على تحويل الصورة (D) من المركب α - amino caprolactum إلى الصورة (L).

22 - 9 - 2 الفيتامينات : Vitamins

تُنتج العديد من الفيتامينات بواسطة الكائنات الحية وتشمل فيتامينات B_{12} والريبوفلافين واللذان يتم إنتاجهما على نطاق تجارى بواسطة التخمر وإن كان الريبوفلافين ينتج معظمه الآن بواسطة التخليق الكيماوى. ويبلغ الإنتاج السنوى من فيتامين B_{12} 10 آلاف كيلو جرام ويتم الإنتاج على مرحلتين بإستخدام سلالات من جنس Propionibacterium أو يتم على مرحلة واحدة بواسطة بكتريا الـ *Pseudomonas denitrificans*.

ويتم أولاً من خلال التخمير بواسطة بكتريا Propioni bacterium إنتاج المركب 5'-deoxyadenosylcobinamide والذى يتحول إلى فيتامين B_{12} كمرحلة ثانية وتتم المرحلتين فى ظروف هوائية خلال مدة قدرها ستة أيام (40ملجم/لتر/الساعة). وبالنسبة للتخمير بواسطة *Pseudomonas denitrificans* فإنه يتم من خلال مرحلة واحدة فى ظروف هوائية فى وجود الكوبالت ومركب 5-6- dimethyl benzimidazole . كما وجد أن وجود البيتاين Betaine يرفع من الكفاءة الإنتاجية سواء عن طريق رفع الكفاءة التخليقية الحيوية أو رفع كفاءة النفاذية من الغشاء الخلوى. وبالتالى فإن إحتواء المولاس على البيتاين يميز إستخدامه كمصدر للكربون. هذا بالإضافة إلى أنه تم إنتاج طفرات من سلالات الـ *P.denitrificans* تنتج 60 ملجم / لتر / ساعة فى أربعة أيام تخمير بدلاً من 40 ملجم / لتر / ساعة لمدة ستة أيام تخمير .

وينتج الريبوفلافين فى ظروف هوائية بإستخدام *Ashbya gassypii* ، ويوجد الريبوفلافين على صورتين إما فى صورة حرة فى المحلول أو يكون مرتبط مع الميسيليوم mycelium ويعطى كمية 7 - 8 جم / اللتر. وتوجد منافسة قوية لإنتاج الريبوفلافين بواسطة التخليق الكيماوى أو بواسطة التخمير بالكائنات الحية الدقيقة وتتجه الأبحاث إلى تطوير إستخدام سلالات من ميكروب الـ *Bacillus subtilis* لإنتاج الريبوفلافين بكميات تجارية كبيرة.

22 - 9 - 3 المنكهات : Flavors

ظهر فى الفترة الأخيرة إتجاه عام بالتحول من إستخدام المنكهات الصناعية إلى

منكهات طبيعية، وهذا التحول فى رغبة المستهلك وكذلك فى إتجاه منتجى الأغذية ويرجع إلى التشريعات الدولية التى تحاول الحد من إستخدام المنكهات الصناعية فى تصنيع الأغذية والمشروبات، وكذلك للتحول العام عن معظم المنتجات الغذائية المصنعة والتى تحتوى على مواد صناعية أو كيماوية والتى بدورها قد تتفاعل أو تتحلل مكونة بذلك مشتقات أخرى.

المنكهات الطبيعية أصبح لها مجال واسع الإستخدام فى عديد من الأغذية والمشروبات وغالباً ما تنتج مواد النكهة من مواد أكثر تعقيداً. وعديد من مواد النكهة الطبيعية الغذائية تشتق من النباتات ولكن المواد العضوية عادة ما توجد بنسبة ضئيلة أو فى صور مرتبطة وهذا ما يجعلها غالباً صعبة الفصل. وأصبحت إمكانية إنتاج المنكهات الطبيعية بتوسع تعتمد على إستخدام الطرق الميكروبيولوجية والإنزيمية وهناك العديد من المميزات لإستخدام الأحياء الدقيقة لإنتاج مركبات النكهة منها ما يلى :

إن الإنتاج يتطلب وقت زمنى قصير ، تعتبر إنتاج لمواد النكهة من مصادر طبيعية، يمكن الإحتفاظ بالسلالة وتطويرها تبعاً للإحتياجات المطلوبة بإستخدام الهندسة الوراثية ، كذلك يمكن إنتاج مواد النكهة معقدة التركيب والتى لا يتيسر إنتاجها إقتصادياً بإستخدام الكيماويات النقية. وهناك إتجاهان أساسيان لإنتاج مركبات النكهة الميكروبية.

1- التخليق الحيوى Biosynthesis ويعرف بإسم denovo synthesis وهو يشمل المركبات الكيماوية الناتجة من عمليات النمو والتخمر والتمثيل الحيوى.

2- التحول الحيوى Biotransformation وهو يعنى إستخدام الخلايا الميكروبية لعمل تعديل متخصص أو تحول فى التركيب الكيميائى.

ويرجع وجود العديد من الأمثلة على التخليق الحيوى البكتيرى لمركبات النكهة إلى المحتوى المنخفض نسبياً المتحصل عليه بالطرق الأخرى مما يعتبر غير إقتصادى وعلى العكس من ذلك فإن إستخدام طرق التحول الحيوى والتى تعتمد على مصادر غير مكلفة نسبياً تعطى إنتاجاً عالياً ويعتبر محل جذب للإنتاج الصناعى من الناحية الإقتصادية . ويتيح إستخدام الأحياء الدقيقة أو الإنزيمات إنتاج مركبات نكهة مفردة أو عديدة (مختلطة) . ومن أمثلة المركبات المكسبة للنكهة الناتجة عن طريق التخليق الحيوى الميكروبى ما يلى :

أولاً: المثيل كيتون : Methyl ketone

تلعب إنزيمات فطر *Penicillium reqforti* المحللة للبروتين والدهون دوراً رئيسياً فى إنتاج النكهة النهائية فى الجبن. حيث أن إنزيم الـ protease يقوم بتحليل كازين اللبن، وكذلك ينتج إنزيم الـ lipase أحماض دهنية حرة والتى تعطى النكهة المميزة لمنتجات الألبان. ونتيجة لتفاعلى الأكسدة ونزع مجاميع الكربوكسيل للأحماض الدهنية ينتج المثيل كيتون (والذى يعتبر النكهة الرئيسية فى الجبن الأزرق).

ثانياً: الداى أستيل والأسيتالدهيد : Diacetyl and Acetaldehyde

وجد الداى أستيل فى بعض منتجات الألبان مثل الكريمة الحامضية وزبدة اللبن ، حيث يتكون بواسطة بكتريا الـ *Lactococcus lactis* . بينما يعتبر الأسيتالدهيد مركب النكهة الرئيسى فى الزبادى وبعض نكهات الفاكهة مثل البرتقال، حيث يتحول الإيثانول إلى أسيتالدهيد بواسطة خلايا *Pichia jadinii (Candida utilis)*.

ثالثاً : اللاكتونات : Lactones

تقترن اللاكتونات بالرائحة الطيبة فى الفواكه – جوز الهند – الزبدة – الحلوى – النُقل ولفطر *T.reesi (Trichoderma vivide)* القدرة على توليد رائحة قوية لنكهة جوز الهند فى بيئة نمو بسيطة بينما لو أنتجت هذه النكهة كيميائياً تحتاج لسبعة مراحل لإنتاجها. وكذلك فإن ميكروب *Sporobalomyces adorus* له القدرة على إنتاج ما يزيد عن 1.6 مجم / لتر من اللاكتون مشابه تماماً لنكهة الخوخ.

رابعاً: الأستـرات : Esters

الإسترات هى المواد المسئولة عن مذاق ونكهة الفواكه وكذلك عيوب الرائحة فى عديد من الأغذية مثل الجبن الشيدر ولكنها مرغوبة فى المشروبات المتخمرة. وتستخدم الأسترات الطبيعية للفاكهة فى تكوين النكهة لإعطاء المذاق والرائحة فى بعض الأغذية مثل الزبادى والآيس كريم والمشروبات بطعم الفواكه والحلوى ، واللبان، ويعتبر كل من أسيتات الأيثيل وبيوتيرات الإيثيل وأيسوفاليرات الإيثيل وهكسونات الإيثيل من الإسترات التى تنتج بواسطة عدة أجناس ميكروبية مثل الـ *Pseudomonas , Lactococcus* ، *Lactobacillus* وعدة

خمائر مثل الـ *pichia jadinii (Condida utilis)* والتى تعتبر من أكثر الميكروبات استخداماً على النطاق الصناعى لإنتاج أسيتات الإيثيل من الإيثانول تحت ظروف مثلى للإنتاج.

خامساً : البيرازينات : Pyrazines

هى المسئولة عن نكهات التحميص للنُقل والأغذية المسخنة، وهذا ما يجعل إقتراح إضافتها إلى الأغذية المطهية فى الميكروويف والتى تفتقد لإنتاج مثل هذه النكهات خلال عملية التسخين. وتنتج البيرازينات من البكتريا مثل *Bacillus subtilis* حيث لها القدرة على إنتاج الـ TMP (تترامثيل بيرازين) . وكذلك يمكن إنتاج الـ MIPP (ميثيل إيسوكسى أيسوبروبيل بيرازين) بإستخدام سلالة الـ *Corynebacterium glutamicum* .

سادساً : المركبات العطرية : Aromatic Compounds

يعتبر البنزالدهيد والفانيلين من أهم المركبات العطرية الهامة على المستوى التجارى. فالبنزالدهيد يتصف فى رائحة اللوز المر ونكهة الفراولة، ويعرف على أنه مركب ثانوى ناتج للتمثيل الميكروبى من خلال إستخدام ميكروب *Pseudomonas putida* أما الفانيلين هو أساس مركب الفانيليا وهو لحد كبير واسع الإستخدام صناعياً نظراً لدخوله فى عديد من النكهات الأخرى. ويمكن إنتاجه ميكروبياً عن طريق التحول الميكروبى من خلال تمثيل الـ mandelate والـ eugenol بواسطة جنس *Corynebacterium* .

سابعاً: النيكلوسيدات : Nucleosides

تم إكتشاف هذه المواد المكسبة للنكهة بواسطة العالم اليابانى Katsubushi عن طريق أملاح الهستيدين للمركبات Inosine monophosphate (IMP) ، 5 - ' Guanosine 5 - ' monophosphate (GMP) . وهذه مواد لها نكهة قوية ويتم إنتاج كلا من المركبن IMP ، GMP فى اليابان على نطاق تجارى بواسطة التحلل الإنزيمى بالخميرة للحامض النووى RNA وكذلك بواسطة التخمير بإستخدام مزرعة مختلطة لطفرتين من *Brevibacterium ammoniagenes* بحيث تكون الأولى قادرة على إنتاج مركب(XMP) من الجلوكوز والثانية لها القدرة على تحويل مركب (XMP) إلى مركب (GMP).

22 - 9 - 4 الصبغـــات : Production of pigments

تعتبر صبغة الكاروتين من الصبغات المنتشرة الإستخدام فى مجال الصناعات الغذائية. بالإضافة إلى الكاروتين الميكروبى والذى يعتبر من أهم مصـادر صبغة الكاروتين، وأنواع الكاروتينات عديدة منها البيتاكاروتين Carotene - والليكوبين lycopene واللليوتين lutein والكانثازانثين canthaxanthin والأستازانثين astaxanthin ويعتبر البيتاكاروتين والليكوبين من أهم الصبغات الكاروتينية المستخدمة فى الصناعات الغذائية. حيث تستخدم البيتاكاروتين فى تحسين لون الزيوت والدهون وكذلك أنواع الجبن الرومى والمشروبات كما يستخدم كإضافات لأعلاف الدواجن حيث تحسن من لون البيض الناتج ويجعله أكثر إصفراراً.

وقد تم التعرف على فطر*Blakeslea trispora* كمنتج للكاروتينات بصورة إقتصادية وخصوصاً أن هذا الفطر أمكن تنميته على بعض أنواع من المخلفات مثل التى تنتج من صناعة عصير البرتقال وهو مخلف لب البرتقال. وحديثاً أُكتشف بعض أنواع الطحالب الخضراء الصغيرة تقوم بإنتاج الكاروتين بنسبة عالية.

أما بالنسبة لليكوبين فى حالة الرغبة فى إنتاج الليكوبين تجارياً يتم عن طريق *Blakeslea trispora*حيث يتم وقف أو تثبيط عملية التخليق عند خطوة تكوين الليكوبين ومنع تحويل الليكوبين إلى بيتا – كاروتين بواسطة تغيير ظروف التنمية مثل درجة الحرارة والـ pH وخصوصاً إذا كان الـ pH قاعدى فإن ذلك يكون مفضل لتكوين الليكوبين دون البيتاكاروتين.

أما باقى الكاروتينات السابقة الذكر فإنها موجودة فى الميكروبات ولكن بصورة غير مركزة أو بصورة غير مجتمعة ولا يتم الحصول على كميات ملموسة (عن طريق تنمية الميكروبات) تقوم عليها صناعة، أى أنها تكون غير إقتصادية.

22 - 10 الإنزيمات : Enzymes

الإنزيمات عبارة عن بروتينات محفزة لعمليات التحليل والتخليق فى النظم الحيوية وبمساعدة العديد من الإنزيمات المتوفرة فى الكائنات الحية الدقيقة يمكن تنفيذ العديد من

التفاعلات الكيماوية الضرورية للنمو وإستمرار الحياة. والإنزيمات ليست فقط مساهم أساسى فى أنشطة الخلايا ولكنها أيضاً لها دور فى العديد من التطبيقات فى مجال التقنية الحيوية biotechnology خصوصاً فى عمليات تصنيع الأغذية مثل المشروبات الكحولية (البيرة والنبيذ) والخبز والجبن والمحليات وغيرها من الصناعات الكيماوية والدوائية لتخليق الأحماض الأمينية والمضادات الحيوية كذلك لتواجد الإنزيمات الطبيعية مميزات فى معالجة المنتجات الغذائية مثل الجبن واللحم لإعطاء قوام ونكهة أفضل إلا أن بعض الإنزيمات تسبب تفاعلات غير مرغوبة مثل التزنخ بإنزيمات الليبيز lypases وتفاعلات التلون بواسطة إنزيمات بولى فينول أوكسيديز polyphenol oxidase وغيرها من التفاعلات.

والتعرف على وظائف وإستخدامات الإنزيمات فى إحداث التغيرات المرغوبة والمفيدة فى الأغذية يقود إلى إنتاج الإنزيمات على نطاق واسع بطريقة تجارية. ويتواجد حالياً أكثر من 3000 إنزيم معروف من المصادر الحيوانية والنباتية والميكروبية، أقل من 20 منها ينتج على مستوى كبير لإستخدامها فى عديد من التطبيقات الهامة. والغالبية العظمى من الإنزيمات تكون محللة مائياً مثل الـ amylases، Cellulases، pectinases، proteasesوالتى تحلل المركبات المعقدة إلى جزيئات بسيطة.

وهناك تزايد مستمر فى إنتاج الإنزيمات من مصادر حديثة ميكروبية، والتحسين فى السلالات مستمر بجهد كبير من قبل الكيميائين والميكروبيولوجين ولنجاح إنتاج الإنزيمات تجارياً يتطلب ذلك التأكد من الناتج المطلوب، وتوافر الخصائص الميكانيكية المتوقعة للعملية التصنيعية والتسهيلات الإقتصادية.

والبحث عن الإنزيمات الجديدة يتضمن إختيار الميكروب الجديد بواسطة الطرق الميكروبيولوجية التقليدية بإستخدام بيئات مغذية وبيئات إنتخاب وبإستثناء الصناعات الغذائية والتى تستفيد من حيوية الخلايا لعملية التخمير فإن القليل من العمليات التخميرية الصناعية تستخدم سلالات برية معزولة مباشرة من الطبيعة. ويستخدم عديد من التطوير لعمليات التخمير بصفة خاصة فى إنتاج الإنزيمات والنواتج الحيوية الثانوية ويعتبر إنتاج الطفرات والميكروبات المعدلة وراثياً من أهم الوسائل للإرتفاع بمعدل الإنتاج ويمكن الحصول على الإنزيمات التجارية فى الصناعة من النباتات والحيوانات والميكروبات فمثلاً

malt.amylase ، proteasea ، papain ، ficin ، تنتج من المصادر النباتية بينما ينتج كل من protease ، amylase ، lipase ، من البنكرياس والـ renin من معدة العجول الصغيرة ، والـ catalase من الكبد ، وكلها مصادر حيوانية . وحالياً أصبحت الميكروبات المصدر الرئيسى للإنزيمات التجارية وإن كانت الإنزيمات النباتية والحيوانية مازالت تستخدم فى تطبيقات خاصة . وتتمثل مزايا إستخدام الإنزيمات الميكروبية فى عمليات التصنيع فيما يلى:

1- السرعة والثبات فى الإنتاجية وتضاعف فى كمية الإنتاج وآمان فى النظام التخميرى مع إنخفاض فى التكلفة الإقتصادية .

2- تتواجد العديد من النظم المختلفة بالنسبة للنشاط الإنزيمى enzyme activity .

3- التحسينات فى الإنتاجية يمكن الحصول عليها بسهولة من خلال الوراثة وهندسة البروتين فى الميكروبات عن الأنسجة النباتية والحيوانية .

وهناك العديد من الشروط التى يجب توافرها فى الكائن الحى الدقيق المستخدم كمصدر للحصول على الإنزيمات وهى : -

1- أن تكون السلالة المختارة قادرة على إعطاء إنتاج عالى من الإنزيمات خلال أقل وقت تخميرى .

2- من المفضل إستخدام الإنزيمات التى تنتج خارجياً نظراً لأنها أسهل فى الإنتاج والعزل بينما الإنزيمات الداخلية تتطلب عمليات مكلفة لإستخلاصها من الخلايا .

3- أن تعتبر الكائنات المستخدمة آمنة تماماً(Generally recognised as safe (GRAS ولا تفرز أى مواد سامة .

4- أن تستطيع السلالة النمو على بيئة غير مكلفة أى مواد خام رخيصة حيث أن الخامات الأولية تمثل عامل كبير فى عملية التخمير . وهذا يعكس الأهتمام بإستخدام أنواع من الـ Bacillus والـ Aspergillus التى لها القدرة على إنتاج الإنزيمات والنمو على بيئات منخفضة الأسعار .

عملية التخميـــر : Fermentation process

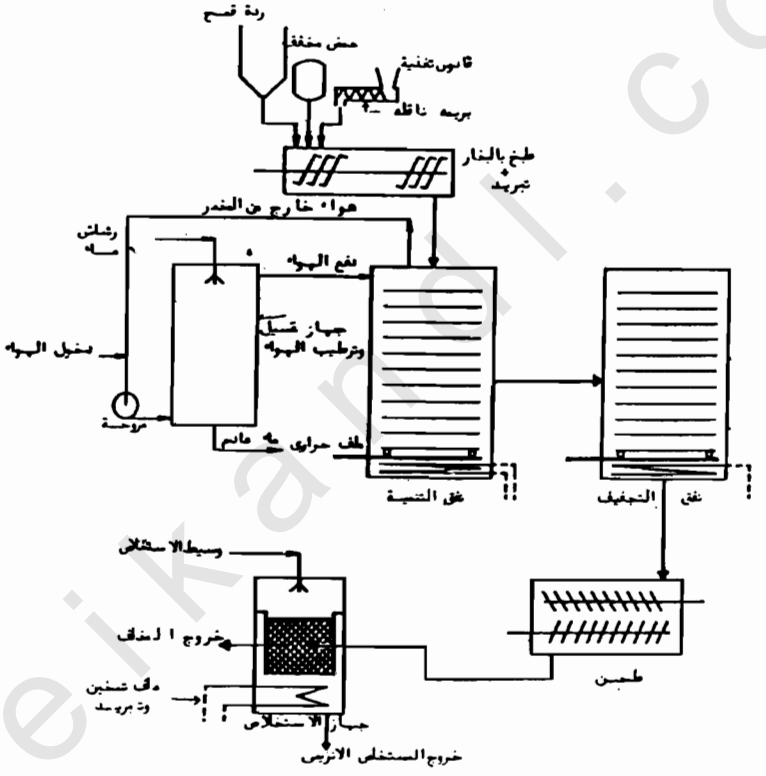
تنتج الإنزيمات الميكروبية بعدة طرق ويتوقف إختيار الطريقة على نوع الميكروب المستخدم (بكتريا أو فطر) ونوع الأنزيم المنتج [تكوينى (أساس) constitutive أو محفز inducible] هذا بالأضافة إلى نوع المادة الخام المستخدمة فى الإنتاج (صلبة أو سائلة).

الطريقة السطحية surface method وهى تطبق عند إستخدام بيئات صلبة مثل (ردة القمح wheat bran والأرز rice bran ورقائق البطاطا sweet potato flakes والحبوب grains وفول الصويا soya bean). وتصلح لإنتاج إنزيمات مختلفة مثل lipase, protease - amylase بواسطة بعض السلالات الفطرية التابعة لجنس Aspergillus مع إستخدام أنظمة مختلفة مثل الأسطوانات الدوارة Drum process أو طريقة الصوانى الضحلة التى تحتوى على طبقة رقيقة من بيئة التنمية تبلغ 2-4 سم شكل رقم 22-12 حيث تلقح وتحضن فى حجرات تحكم يتم من خلالها مراقبة وضبط درجة الحرارة ونسبة الرطوبة ومعدلات التهوية. بينما النظام الثانى والمسمى deep bed process حيث تستخدم بيئة نمو يصل سمكها إلى 0.6 متر فى وعاء تخمير يبلغ عمقه 1.5 - 1.8 متر ويصاحب ذلك التحكم فى درجة الحرارة والرطوبة ومعدل التهوية وغيرها من العوامل المؤثرة.

الطريقة المغمورة Submerged method وهى تطبق بصفة خاصة مع البيئات السائلة وتصلح لإنتاج الإنزيمات البكتيرية وبعض الإنزيمات الفطرية وتتم فى تنكات لها سعات تتراوح بين 10 - 100 ألف لتر ومزودة بمقلب ميكانيكى مع إمكانية تطبيق نظام مزرعة الدفعة الواحدة batch culture أو نظام المزرعة المستمرة continuous culture. وتجدر الإشارة هنا إلى أنه فى حالة تشابه الظروف المثلى لكل من نمو الخلايا لإنتاج biomass مع الظروف المثلى لإنتاج الإنزيم يطبق نظام المرحلة الواحدة single stage (سواء مزرعة الدفعة الواحدة أو المزرعة المستمرة) ويطلق عليها البعض extended culture بينما فى حالة إنتاج الإنزيمات المحفزة inducible enzymes فإن الظروف المثلى لنمو الخلايا تختلف عن الظروف المثلى لتحفيز وإنتاج الإنزيم لذلك فإن إنتاج الإنزيم بكفاءة فى هذه الحالة يتم من خلال إستخدام المزارع المستمرة ذات المرحلتين حيث يتم من خلال المرحلة الأولى إنتاج

الخلايا بينما توجه المرحلة الثانية لإنتاج الإنزيم.

ويجب أن يؤخذ فى الإعتبار خلال عمليات التخمير العديد من العوامل التى تؤثر على كفاءة الإنتاج مثل بيئة التغذية وحجم وعمر اللقاح ودرجة الـ pH ودرجة الحرارة والتهوية.



شكل رقم22 - 12 : رسم تخطيطى لإنتاج الإنزيمات بالطريقة السطحية (الصوانى)

المصدر : Reed , (1982).

وينتج إنزيم الـ glucoamylase من بعض الفطريات مثل *Aspergillus sp.* ويقوم هذا الإنزيم بتحليل الرابطة α -1-4 بصفة رئيسية ولحد ما الرابطة α -1-6 وبالتالى فهو ينتج

سكريات بسيطة من مواد معقدة فيما يعرف بالـ saccharifing ويطبق ذلك فى إنتاج الجلوكوز على نطاق واسع أما إنزيم الـ glucose isomerase والذى يتم تكوينه داخل الخلايا فى معظم السلالات يمكن إنتاجه بإستخدام سلالة من بكتريا *Bacillus coagulans* ولهذا الإنزيم أهمية فى الإنتاج التجارى للمحليات مثل إنتاج high fructose corn sweetners .

وتتواجد الإنزيمات البكتينية فى العديد من النباتات والكائنات الحية الدقيقة وتنتج تجارياً من مصادر ميكروبية خاصة الفطريات، وتستخدم البيئات السطحية والمزارع المغمورة بطريقة الدفعات batch method بإستخدام ميكروب الـ *Aspergillus niger* فى وجود2٪ سكروز و2٪ بكتين وتستغرق عملية التخمير من 60 - 80 ساعة عند درجة pH 3-4 ودرجة حرارة37 °م . ويستخدم مخلوط الإنزيمات المحللة للبكتين pectinases فى إستخلاص وترويق وتحسين لون بعض العصائر المستخلصة من ثمار الخضر والفاكهة.

ومن التطبيقات الرئيسية لإنزيم الكتاليز فى التصنيع الغذائى هو التخلص منH_2O_2 المستخدم فى عمليات التعقيم على البارد كما يستخدم لإزالة المتبقى منH_2O_2 المستخدم فى عمليات تبييض الأنسجة، ويوجد إنزيم الكتاليز فى جميع الكائنات الحية الدقيقة الهوائية . وفى الولايات المتحدة الأمريكية وأوروبا فإن المعاملة بـH_2O_2 بدلاً من المعاملة الحرارية محددة فقط فى صناعة الجبن ولو أنها فعالة جداً لخفض إعداد الميكروبات المرضية.

أما إنزيم الـ lipase والذى يحلل الجلسريدات الثلاثية إلى جلسريدات أحادية أو ثنائية وجليسرول وأحماض دهنية حرة وذلك عن طريق تحليل الروابط الإستيرية فهو ينتج تجارياً بواسطة الفطريات والبكتريا، وعادة يتم حث إنتاج الإنزيم بإضافة مواد تفاعل مثل الزيوت والدهون على الرغم من أن الدهون وخاصة الجلسيرول يثبط إنتاج الإنزيم من فطر *G.candidum* والطريقة المفضلة لإنتاج الإنزيم هى طريقة المزارع نصف الصلبة semisolid ، ويمكن استرجاع إنزيم الليبيز كمنتج ثانوى عند إنتاج الرنين الميكروبى بواسطة فطر Mucor وذلك بالإدمصاص على المعادن الطينية.

وللإنزيمات المجبنة للبن (acid proteases M. C. E.) الميكروبية المنتجة من بعض الفطريات المقاومة للحرارة مثل الـ Mucor لها مدى واسع من الإستخدام بدلاً من الرنين

المستخرج من معدة العجول الرضيعة. وحالياً يتم إستخدام الإتحادات الوارثية لنقل والتعبير عن جين calf rennet داخل الكائنات الدقيقة مثل الـ E. coli والتى يمكن إستخدامها لإنتاج الإنزيم اللازم لصناعة الجبن ويكون له نفس خصائص الـcalf rennet تماماً. ولهذا يمثل المصدر الميكروبى للإنزيم مصدر مستمر للإنتاج بالإضافة إلى أنه يقلل من الإحتياج لذبح العجول الرضيعة.

ويمكن إستخدام أنواع من جنس الـ *Kliveromyces* وأنواع من *Aspergillus spp.* لإنتاج إنزيم بيتا جلاكتوزيداز والذى يحول اللاكتوز إلى جلوكوز وجلاكتوز. واللاكتوز له درجة تحلية منخفضة ويكون أشكال بللورية فى التركيزات المرتفعة ويمكن التغلب على هذه المشكلة بإستخدام أنزيم بيتا جلاكتوزيداز وتعمل الإنزيمات المنتجة من الخمائر فى مدى من الـpH بين (6-7) أما الإنزيمات المنتجة بواسطة الفطريات فتعمل فى مدى pH من 4 إلى 5. وتستخدم هذه الإنزيمات أيضاً لزيادة درجة حلاوة المشروبات المحتوية على اللبن وكذلك فى منع تبلور اللاكتوز فى الألبان المركزة والشرش (كأحد المواد المستخدمة فى الخبيز وصناعة الحلوى) وفى منتجات الألبان المتخمرة وذلك لزيادة معدل التخمير.

وبصفة عامة فإن الإنزيمات الخارجية توجد فى البيئة لذلك تكون عمليات الاسترجاع للحصول على الإنزيم النقى عمليات بسيطة مثل الطرد المركزى والترشيح أو التبخير تحت ضغط أو الترسيب للبروتينات. أما الإنزيمات الداخلية الموجودة داخل الخلايا فلابد من إستخدام طرق ميكانيكية وفيزيقية مثل التجنيس تحت ضغط عالى لتحطيم جدر الخلايا وكذلك يمكن استخدام عملية التحليل الذاتى autolysis لتكثير جدر الخلايا ولكن هذه الطريقة لاتستخدم على النطاق التجارى . وتؤدى تكاليف عمليات الفصل والتنقية للحد من إستخدام الإنزيمات الداخلية فى العمليات التجارية . ويمكن من خلال عمليات تنقية الإنزيمات الداخلية التخلص من البروتينات المصاحبة بإستخدام كبريتات الأمونيوم أو الصوديوم وفى حالة الإنزيمات المقاومة حرارياً يمكن ترسيب البروتينات المصاحبة لها بالحرارة كذلك يمكن إستخدام المذيبات العضوية مثل الكحولات لترسيب البروتينات فى العمليات التجارية . ويمكن إستخدام عملية الترشيح الدقيق ultra-filtration بكفاءة لتركيز محلول الإنزيم أكثر من عمليات التبخير تحت تفريغ vaccum evaporation . وعموماً فى الماضى كل

الإنزيمات كانت تباع كمسحوق ناعم ولكن حالياً معظم الإنزيمات يتم إعدادها كحبيبات granules لتلافى التأثير الضار للمسحوق الناعم على الإنسان ولزيادة الإقبال عليها فى هذه الصورة وتحسين ثباتها التخزينى.

ومازالت هناك العديد من العمليات الناجحة التى تعتمد على مدى فهم العلاقات والعمليات الإنزيمية الجديدة مثل التحميل بالإضافة إلى الإتجاهات الحديثة المرتبطة بالهندسة الوراثية وهندسة البروتين والتى سوف تؤدى إلى طفرة كبيرة فى مجال إستخدام الإنزيمات وتوجيهها التوجيه السليم لخدمة كافة المجالات والتى يتبعها مجال التصنيع الغذائى.

22 - 11 الكيماويات الصناعية : Industrial chemicals

استعملت عمليات التخمير فى الماضى لإنتاج العديد من المواد الكيماوية مثل الاسيتون، البيوتانول، الجلسرول، الأحماض العضوية (مثل الستريك والفيوماريك والخليك)، وغيرها من المنتجات . ثم أصبح إستخدام منتجات البترول من أهم المصادر لإنتاجها نظراً لأنه أقل تكلفة بالنسبة لبعض هذه المنتجات، ولكن الخوف من تعرض المصادر البترولية للنضوب حيث أنها مصادر غير متجددة، أدى ذلك للبحث عن مصادر أخرى للطاقة، مما يزيد من الإعتماد على إستخدام التخمرات الصناعية لإنتاج هذه الكيماويات. ومن أكثر الكيماويات التى استخدمت التخمرات فى إنتاجها كحول الإيثانول.

ومما شجع نجاح الصناعات التخميرية فى إنتاج هذه المنتجات توفر المواد الخام اللازمة للصناعة والتى تتمثل فى المخلفات الزراعية والصناعية مما يساعد على تحويلها إلى مواد مفيدة وخفض التلوث البيئى من جهة أخرى. وتتميز هذه المخلفات أيضاً برخص ثمنها مما يخفض تكلفة الإنتاج.

ولكى يتم عملية التخمر بنجاح فإنه يجب معاملة المادة الخام بطرق مختلفة، فمثلاً يستلزم بالنسبة لإستخدام الحبوب تعديل رطوبتها وعمليات التسخين وتحويل النشا إلى جلوكوز بواسطة العمليات الإنزيمية. أما عند إستخدام اللجنوسليولوز كمادة خام للتخمير فإنه يتطلب إجراء عمليات تحويلية بإستخدام الأحماض أو القلويات والتعرض للبخار علاوة على

بعض العمليات الميكانيكية مما يزيد من التكلفة الكلية. ومن المشاكل التى تواجه الإنتاج بالتخمير هو أن بعض السلالات الميكروبية يكون نموها ضعيفاً بما لا يلائم الإنتاج التجارى. ويجب ملاحظة أن السليولوز أكثر مقاومة لفعل الأحماض والإنزيمات عن السكريات العديدة مثل النشا ولكن يتميز السليولوز بإنتشاره الواسع فى الطبيعة.

22 - 11 - 1 إنتاج الإيثانول : Ethanol production

لقد إتجهت البحوث إلى استنباط سلالات ميكروبية جديدة أو معدلة جينيا ولها قدرة عالية على الإستفادة من المخلفات المتوفرة بأقل معاملة مبدئية أو إستخدامها مباشرة دون معاملات . ولإنتاج الكحول الإيثيلى عن طريق عمليات التخمير عدة مميزات منها: إنتاج سريع – يتم الإنتاج من مصادر متعددة – يمكن إستخدام البقايا الزراعية كمواد خام – طريقة إنتاجه بسيطة – الكحول الناتج أكثر نقاوة من المنتج من البترول . والكحول الناتج يتم تحضيره فى عدة صور منها ما هو تركيزه 92.4 ٪ ويستخدم فى مستحضرات التجميل والأدوية ومنها الكحول اللامائى 99.8 ٪ ويستخدم فى الصناعات الكيماوية.

ولإنتاج الكحول يُستخدم مولاس سكر البنجر أو القصب كما يستخدم النشا أو المحاصيل الجذرية أو المواد السليولوزية من الخشب أو بقايا ومخلفات الصناعة وينتج 95 ٪ من الكحول المنتج بالتخمر بواسطة *Saccharomyces cerevisiae* والتى تنمو على السكريات السداسية، ويلاحظ أن سلالات الـ saccharomyces لا تستطيع النمو على سكر الزيلوز بينما أجناس أخرى من الخميرة تستطيع النمو على هذا السكر وكذلك بعض البكتريا مثل *Clostridium thermosaccharolyticum* وكذلك *Thermoanaerobacter ethanolicus* وهناك سلالات تنتج كميات ضئيلة من الكحول أو تنتج مواد أخرى بالإضافة للكحول وبالتحكم فى درجة الحرارة وباقى الظروف البيئية يمكن منع إنتاج تلك المواد كذلك فإن بكتريا الـ *Zymomonas mobilis* تنتج الكحول بنسبة 5-10 ٪ أعلى من إنتاجه بواسطة الخمائر ولكن من عيوبها أن الكحول الناتج يكون غير ثابت وكذلك يصعب فصله. وهناك إتجاه لإستخدام الـ Clostridium لتحويل السليولوز إلى إيثانول وكذلك إستخدام الطرق الإنزيمية والكيماوية والطبيعية لتحويل السليولوز والهيميسليولوز إلى سكريات يسهل تخمرها. وحتى عام 1970 لم ينتشر إستخدام الكحول فى إنتاج الطاقة ولكن عندما أرتفعت أسعار البترول

بصورة كبيرة أتجهت الأبحاث لتوفير مصدر رخيص للطاقة مثل الطاقة الشمسية والرياح والأمواج وإستعمال الكائنات الحية الدقيقة لإنتاج الميثانول والتى أصبحت واسعة الإنتشار ففى الولايات المتحدة الأمريكية يتم مزج الجازولين مع 10 ٪ كحول ويعرف الخليط الناتج بالجازول gasohol والذى يستخدم كمصدر للطاقة ويلقى إنتاجه تشجيع من جانب الدولة بحيث لا يحصل عليه أى ضرائب وبذلك أرتفعت كمية الناتج من الكحول بالتخمير إلى1.8 بليون جالون فى عام 1980 ونتيجة لتشجيع إستخدامه كمصدر للطاقة فى السيارات فقد أرتفع الإنتاج إلى 8 بليون جالون فى عام 1990 وتعتبر البرازيل رائدة فى صناعة إنتاج الكحول عن طريق التخمير حيث أنتجت 1.8 بليون جالون فى عام 1982 ثم أرتفعت إلى 3بليون جالون عام 1987 . وهناك جهات عديدة تقوم بنقل تكنولوجيا تصميم الماكينات لتعمل بالكحول أو الجازول gasohol وذلك لتقليل الإعتماد على البترول والجازولين وخفض التلوث البيئى.

ويتم إنتاج الكحول عن طريق التخمر بعدة نظم :

1- نظم الخلايا الحرة free cell systems وتضم طريقتين :

الطريقة الأولى - طريقة الدفعة الواحدة batch method- وهى تستغرق 36-72 ساعة ورغم أن هذه الطريقة بسيطة إلا أنها أقل كفاءة وبطيئة وتصل كمية الكحول المنتج إلى 1.8 - 2.5 جم / لتر / ساعة.

الطريقة الثانية - الطريقة المستمرة continuous method - حيث أن هذا النظام أقل تكلفة وأكثر كفاءة فى التحكم الآلى لها مما يؤدى إلى رفع كفاءة وجودة الإنتاج وقد طبق هذا النظام فى إنتاج الكحول فى الإتحاد السوفيتى منذ عام 1960 ثم طبقت فى الدول الغربية حتى وصل الإنتاج إلى 6 جم / لتر / ساعة وهذا يمثل ثلاثة أضعاف من المتحصل عليه بنظام الدفعة الواحدة. وبتطوير هذا النظام وإستخدام مرحلتين بدلاً من مرحلة واحدة إرتفعت كفاءة الإنتاج إلى 2.3 ضعف مقارنة بالمرحلة الواحدة وقد تصل عدد هذه المراحل إلى 12مرحلة.

2- إنتاج الكحول بإستخدام خلايا الخميرة المحملة immobilized yeast cells ويتميز هذا

النظام عن التقنيات الأخرى من عدة نواحى من أهمها : الحفاظ على حيوية الخلايا – إمكانية إستخدام تركيز عالى من الخلايا – سرعة معدل التفاعل – خفض مخاطر التلوث الميكروبى – إمكانية إعادة تنشيط هذا النظام هذا بالإضافة إلى بساطته وإنخفاض التكلفة.

22 - 11 - 2 إنتاج حامض الستريك : Citric acid production

يستخدم حامض الستريك تطبيقيا فى كثير من المجالات ففى صناعة المشروبات يستخدم كمصدر للحموضة ومنع ظاهرة التسكير (بلورة السكر) وكذلك فى صناعة المربى والحلوى وقديماً كان يستخلص من عصير الليمون، وفى عام 1923 بدأ إنتاجه لأول مرة عن طريق التخمر وفى عام 1933 أصبح إنتاجه بالتخمر يمثل 80 ٪ وفى الوقت الحاضر ينتج 300000 طن من حامض الستريك سنوياً عن طريق عمليات التخمر. وتستخدم مزارع من فطر الـ *Aspergillus niger* لإنتاج حامض الستريك وفى عام 1977 بدأ إنتاجه تجارياً بواسطة الخمائر من جنس الـ *Candida* ومازال إستخدام الفطر هو الأكثر إنتشاراً إلا أنه يعاب عليه أن مزارعه تكون حساسة وإنتاجها قليل. ويعتبر المولاس هو المادة الخام الرئيسية المستخدمة وعند إستخدام الـ *A. niger* يجب ألا يقل محتوى المولاس من السكر عن 14٪ وتركيز النيتروجين يكون 0.1 - 0.4 جم / لتر ويزداد إنتاج السترات بإضافة NH_4^+ أثناء التخمير. ويجب معاملة المولاس بمواد كيماوية لخفض نسبة المنجنيز مثل مادة Hexacyanoferrate (HCF) أو إستخدام النحاس حيث أن سلالات هذا الفطر حساسة لوجود المنجنيز كما أن أن وجود المنجنيز يؤدى لزيادة لزوجة البيئة نظراً لإتجاه الفطر للنمو وإنتاج الميسيليوم، ويؤدى ذلك لحدوث نقص سريع فى تركيز الأكسجين مما يؤثر على إنتاج حامض الستريك. كما يجب المحافظة على الـ pH ليكون أقل من 2 حيث أنه مناسب لإنتاج حامض الستريك وزيادة قيمة الأس الهيدروجينى عن ذلك تؤدى إلى إنتاج حامض الأوكساليك. أما الخميرة فتتميز بأن قدرتها التخميرية مرتفعة وكذلك قدرتها عالية على تحمل التركيزات المرتفعة من السكر.

ويتم إنتاج حامض الستريك بإستخدام الـ *A. niger* خلال عدة مراحل :

– تكسير السكريات السداسية إلى بيروفات وأستيل CoA.

- تكوين الأوكسال أسيتات من البيروفات وثانى أكسيد الكربون.

- تراكم السترات خلال دورة tricarboxylic acid .

ومن خلال الفطر المستخدم يتم إنتاج الإنزيمات وتحفيز نشاطها وكذلك فإن التركيزات العالية من السكريات تؤدى إلى تحفيز النشاط الإنزيمى ولكى يتم إنتاج حامض الستريك فإنه من الضروى تثبيط لإنزيم واحد على الأقل من إنزيمات دورة الـ tricarboxylic acid وحديثاً يتم التحكم فى إنزيم الـ Ketoglutarate dehydrogenase- حتى لا يحدث تفاعل عكسى من خلال الدورة الإنتاجية. ويتم تثبيط الإنزيمات عن طريق زيادة التركيزات الفسيولوجية لكل من oxaloacetate والـ NADH والذى ينتج خلال إنتاج السترات وتستخدم الأمونيا لتثبيط أنزيمات الـ phosphofructo kinase وكذلك فإن خفض نسبة المنجنيز يؤدى إلى تكوين بروتين حامضى مما يؤدى إلى تكوين ببتيدات وأحماض أمينية وأمونيا حيث أن الأمونيا ضرورية لتثبيط إنزيمات phosphofructo kinase ويعتبر الأوكسجين هام لأعادة أكسدة الـ NADH أثناء إنتاج حامض الستريك. وهناك نظام تنفس آخر يلعب دوراً هاماً فى أكسدة NADH بدون تكون ATP وهذا النظام حساس لحمض - salicyl hydroxamic acid (SHAM) بدليل عند إضافة ها الحمض ثيط تكون حمض الستريك لحد كبير.

22 - 11 - 3 إنتاج حامض الجلوكونيك : Gluconic acid production

ينتج حامض الجلوكونيك عن طريق أكسدة الجلوكوز وذلك بطرق كيماوية (مثل إستخدام الهيبوكلوريت) أو عن طريق التحليل الألكتروليتى للمحلول السكرى المحتوى على كمية معلومة من البروميد أو عن طريق تخمير الجلوكوز بواسطة الفطريات أو البكتريا. وحالياً يعتبر التخمير هو أفضل الطرق لإنتاج حامض الجلوكونيك وينتج حامض الجلوكونيك فى عدة صور منها - lactone - D-glucono وجلوكونات الصوديوم وجلوكونات الكالسيوم والحديد.

ولحامض الجلوكونيك ومشتقاته إستخدامات عديدة فى الصناعات الغذائية والدوائية وصناعة النسيج، حيث يستخدم الـ phosphogluconate والـ ferrousgluconate فى الأدوية العلاجية ويستخدم الـ - lactone - D-glucono فى مسحوق الخبيز (بيكنج بودر)

كما تستخدم جلوكونات الصوديوم كمادة مفككة sequestering agent ويمكن إستخدام حامض الجلوكونيك كمنظف فى مصانع الألبان لمنع تكوين milk stone كذلك يستخدم فى الطباعة ومعاملات الجلود وكذلك فى التصوير.

وعادة ينتج حامض الجلوكونيك بواسطة الفطريات من جنس Aspergillus أو Penicillium بإستخدام الصوانى الضحلة shallow pan method أو طريقة المزرعة المغمورة submerged growth تحت ضغط من الهواء. والطريقة الأخيرة تفوق الأولى ليس من ناحية إنخفاض مدة التخمير اللازمة فقط ولكن أيضاً بالنسبة لسهولة الطريقة وإمكانية رفع الكفاءة الإنتاجية إلى حوالى 90 ٪ وعند إستخدام فطر الـ *Aspergillus niger* يتحول الـ α-D- glucose إلى β -D- glucose ثم إلى D- glucono - γ - lactone بواسطة إنزيم glucose oxidase بنزع ذرتين هيدروجين من الجلوكوز وبعد ذلك يحدث أكسدة بواسطة الأكسجين وينتج فوق أكسيد الهيدروجين .

22 - 11 - 4 إنتاج حامض اللاكتيك : Lactic acid production

يمثل حامض اللاكتيك المنتج بالتخمير نصف كمية الحامض المنتجة فى العالم، ويستخدم فى الصناعات الغذائية والأغراض الدوائية وكذلك فى إنتاج steroyl - 2 - lactylate. ويستخدم فى إنتاج الحامض ميكروب *Lactobacillus delbrueckii* supsp. *delbrueckii* والذى يحتاج إلى بيئة مركبة من 5٪ سكروز أو دكستورز ونيتروجين معقد وضبط درجة الـ pH بين5 : 6.5 وتتراوح درجة الحرارة من 45 إلى 60 °م وتستغرق عملية التخمير 3-4 أيام والناتج النهائى يحتوى على 90-95٪ حامض لاكتيك وخلال عملية التخمير يتم تحويل الهكسوزات إلى بيروفات والتى تتحول إلى لاكتات عن طريق إنزيم L-lactate dehydrogenase .

22 - 11 - 5 إنتاج حامض الخليك : Acetic Acid production

تساهم العمليات التخليقية منذ عام 1950 بإنتاج 2.5 مليون طن من حامض الخليك عالمياً، وقد كان الإيثيلين هو المادة الرئيسية لإنتاجه صناعياً، ومع زيادة سعره بدأ إنتاجه طبيعياً بالتخمير. وأثناء الإنتاج تتكون العديد من الأحماض الدهنية كنواتج ثانوية وكذلك

يتكون حامض البيوتيريك والبروبيونيك.

ويستخدم ميكروب *Clostridium butyricum* لإنتاج خليط من أحماض الخليك والبيوتيريك من الجلوكوز وتقوم ميكروبات *Cl. thermocellum* و*Cl. thermoaceticum* بتخمير الجلوكوز والفركتوز إلى أسيتات ثم ينتج الحامض.

22 - 11 - 6 إنتاج الجليسرول : Glycerol production

إستخدم التخمير فى إنتاج الجليسيرول أثناء الحرب العالمية الأولى والثانية، حيث تنتج كميات كبيرة من الجليسيرول عن طريق التخمر الكحولى بواسطة الخميرة. وأثناء تحول الأسيتالدهيد إلى إيثانول يحدث إنتاج للـ $NADH^+$ وكذلك بروتونات H^+ نتيجة تحول الجليسيرالدهيد – 3– فوسفات إلى حمض 3.1 داى فوسفوجليسيريك، وعند إضافة بيسلفيت الصوديوم sodium bisulfite يتكون الـ acetaldhyde - sulphite بالإضافة إلى الـ $NADH^+ + H^+$ والذى يعمل على إختزال الـ dihydroxyacetone phosphate إلى glycerol phosphate والذى يتحول إلى جليسيرول وتكون المحصلة لإنتاج الجليسيرول 30٪ وتستغرق فترة التخمير من 2 - 3 أيام .

22 - 11 - 7 إنتاج السكريات العديدة : Microbial polysaccharides

أستخدمت السكريات العديدة النباتية المنشأ (النشا – الأجار – الألجينات) لعدة سنوات ومنذ عام 1960 تقريباً أصبحت السكريات العديدة الميكروبية واسعة الإنتشار والإستخدام على نطاق تجارى خاصة تلك التى تفرز خارج الخلايا الميكروبية exopolysaccharides ويتوقف كمية وجوده وتركيب المركب عديد التسكر على نوع الميكروب وظروف النمو وتركيب البيئة وتصميم المخمر بما يتناسب مع تلافى زيادة اللزوجة فى المخمرات. ومن أهم العوامل المؤثرة على كمية وجوده الإنتاج هو مصدرى الكربون والنيتروجين حيث يحددان النمو فى البيئة وتغيير نسبتيهما يؤدى إلى تغيير كفاءة الإنتاج.

ومن أهم الميكروبات المستخدمة لإنتاج بعض السكريات العديدة هى :

البكتريا ومنها *Leuconostoc klebsiella* وتنتج الدكستران Dextrans بكتريا Azotobacter sp. تنتج حمض الألجنيك Alginic acid أما بكتريا *Xanthomonas sp.*

فهى تنتج الزانثان Xanthan ومن الفطريات المستخدمة فطر *Sclerotium sp.* وينتج سيليروجلوكان Seleroglucan بينما يستخدم فطر *Aureobasidium sp.* لإنتاج البيوليولان pullulan.

ويعتبر صمغ الزاذثان من أهم الصور للسكريات العديدة التى يتم الحصول عليها ميكروبياً. وهذا الصمغ له لزوجة عالية ويظل ثابت عند درجات pH مختلفة ودرجات حرارة مختلفة وعند خلطه بالسكريات العديدة النباتية المنشأ يمكن الحصول على جل ثابت وله خواص بلاستيكية جيدة ويستخدم كمادة مشحمة. والـ pH المناسب لإنتاج الزانثان هو7 درجة pH والدرجة المناسبة لنمو الميكروب المستخدم فى الإنتاج هى pH 5.5 وبزيادة الإنتاجية تزداد لزوجة البيئة وهذا يتطلب الإهتمام بتصميم المخمر.

22 - 12 المنتجات ذات القيمة العلاجية : Health care products

إضافة إلى ما تقدم من التطبيقات التكنولوجية للمنتجات الميكروبية فى التصنيع الغذائى فإن جهود وأبحاث العلماء قد تواصلت لتغذو أفاق جديدة تهدف إلى توظيف الطاقات البيوكيميائية للكائنات الدقيقة لإنتاج منتجات ذات قيمة علاجية مثل المضادات الحيوية والأستروريدات والقلويدات وقد أدى أدماج تطبيقات الهندسة الوراثية إلى أستنباط العديد من المواد ذات الصبغة المناعية مثل الفاكسينات والأجسام المضادة وغيرها.

22 - 12 - 1 المضادات الحيوية : Antibiotics

المضادات الحيوية عبارة عن منتجات أيض ثانوية لبعض الكائنات الحية يمكنها بتركيزات منخفضة تثبيط نمو كائنات حية أخرى. وتعتبر ملاحظة الكسندر فلمنج Alexander fleming عام 1929 أولى الملاحظات عن دور هذه المواد الهامة حيث لاحظ أن نمو البكتريا العنقودية يثبطها فطر *Penicillium notatum* ، ولقد أدت هذه الملاحظة فيما بعد إلى إنتاج البنسلين ليبدأ عصر المضادات الحيوية، وفى وقتنا الحالى يوجد أكثر من6000 مادة معروفة بأثرها كمضاد حيوى. وهناك حوالى 100 نوع من المضادات الحيوية يتم إنتاجها بالتخمر بينما هناك حوالى خمسون مركباً يتم إنتاجها بطريقة نصف تخليقية لإستخدامها فى العلاج كمضاد حيوى. وتصل الكميات المنتجة من المضادات

الحيوية حوالى 100,000طن يصل ثمنها إلى أكثر من 5 مليار دولار. وتعتبر المضادات الحيوية التابعة لمجموعة β-lacton أكثرها إنتشاراً (البنسلين والسيفالوسبورين Cephalosporin) وأيضاً التتراسيكلينات أما كل من Chloramphenicol والـ pyrrolnitrinفإنها تنتج حالياً بطرق كيماوية رخيصة بدلاً من التخمرات.

والمضادات الحيوية تُستخدم أساساً لعلاج الأمراض فى الإنسان كما أن بعضاً منها يستخدم كمضادات لنمو الخلايا فى بعض أنواع السرطان كما أن لكثير منها دوراً هاماً فى علاج أمراض الحيوان والنبات وفى حفظ الأغذية كما يستخدم بعض منها كمنشطات لنمو الحيوان.

إنتاج البنسلينات : Pencillins production

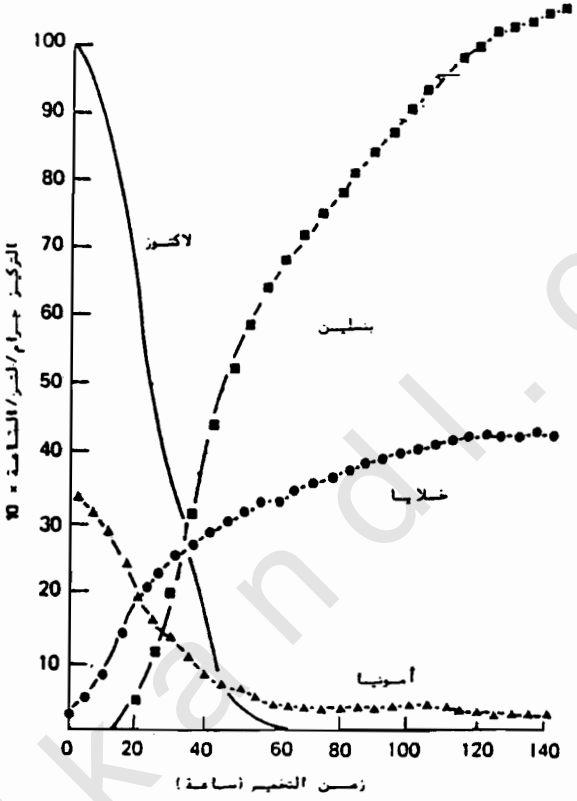
التركيب الأساسى لهذه المجموعة هو (6 - APA) 6- amino penicillic acid وهو مكون من حلقة thiazolidine متداخلة مع حلقة β-lacton ويلاحظ أن الوضع 6- amino position يمكن أن تحدث منه عدد من إستبدال لمجاميع الأسيل Acyl . ففى غياب أى إضافات لمولدات السلاسل الجانبية فى بيئة التخمر يتكون خليط من البنسلينات الطبيعية ولكن من بين هذا الخليط فإن البنزيل بنسلين (بنسلينG) والفينوكسى ميثيل بنسلين (بنسلينV) هما فقط اللذان لهما قيمة علاجية ولكليهما نفس مدى التأثير حيث يؤثران على البكتريا الموجبة لجرام، وإن كان البنسلين Gحساس للتأثير الحامضى لهذا يجب أن يؤخذ فقط بالحقن بينما بنسلينV ثابت فى الوسط الحامضى لهذا يمكن أخذه عن طريق الفم ورغم أن البنسلين G يتكون طبيعياً أثناء التخمر إلا أنه يمكن التحكم فى عملية التخمر للحصول على نسبة عالية من بنسلينG وعملية التحكم سهلة تتطلب إضافة مولد precursor حامض الفينيل لاكتيك. أما إذا أضيف حامض فينيل خليك وأليل ميركابتو خليك كمولدات فى البيئة فإنه يتكون بنسلين V وأيضاً يتكون بنسلين O الذى يتميز بأنه أقل أفراد المجموعة إحداثاً للحساسية، كما يمكن إنتاج مشتقات من البنسلينات ذات ثبات أعلى ومدى تأثير أوسع بإستخدام طرق نصف صناعية بعد تحليل كيماوى أو إنزيمى للبنسلينG إلى 6-APA .

من المعروف أن سلالة فليمنج Fleming من فطر P. notatum كانت تنتج 2 وحدة

دولية / مل أو ما يعادل 1.2 ملليجرام / مل. أما سلالة (NRRL-1951) *P. chysogenum* التى عزلت عام 1943 وهى سلالة كانت أكثر ملائمة للإنتاج بطريقة المزرعة المغمورة من المزرعة الأولى، هذه السلالة رفعت الإنتاج إلى 120 وحدة / مل. أما طفرة وسكنسن الشهيرة الناتجة عن هذه السلالة الأخيرة(wis Q 176) فإنها أعطت 900 وحدة دولية / مل. ولقد إستخدمت تقنيات أشعة أكس والأشعة فوق البنفسجية وعدد من المطفرات الكيماوية فى إنتاج سلالات جديدة. ولقد أدت برامج تطوير السلالات وتطوير عمليات التخمر إلى الوصول بمعدل إنتاج البنلسين إلى000 85 وحدة دولية / مل أو ما يعادل 50جرام / لتر. ويعتبر ضبط تركيز اللقاح بالجراثيم وتكون تكتلات لهيفات غير منضغطة أثناء مرحلة النمو الخضرى ضروريتين للوصول إلى أعلى إنتاج من البنسلين. وأثناء التخمر يتم تضاعف الكتلة الحية Biomass كل 6 ساعات، ومن مشاكل التخمر عدم ثبات السلالة مما يتطلب ضبطاً مستمراً لعملية المحافظة على السلالة. والظروف المثلى لإنتاج البنسلين يتضمن إستخدام نظام تغذية الدفعة Fed . Batch فى التخمر بإستخدام بيئة منقوع الذرة Corn steep وأمونيا وأملاح معدنية ومصدر للكربون مثل الجلوكوز واللاكتوز أو المولاس ، ويمثل منقوع الذرة مصدراً جيداً للنيتروجين حيث أنه يحسن من إنتاج البنسلين نظراً لإحتوائه أيضاً على مولدات السلاسل الجانبية. ويلاحظ أن إضافة مصادر للسلاسل الجانبية يمكن من إستخدام مصادر للنيتروجين خلاف منقوع الذرة. ويعتبر تثبيت مستوى الأمونيا أثناء التخمر ضرورياً لمساعدة الفطر على التنفس ويمنع تحلل الميسيلوم كما أنه ضرورى لإنتاج البنسلين. ويتم ضبط الـ pH أثناء التخمر عند 6.5 كما يتم الإمداد المستمر بحامض الفينيل لاكتيك أو الفينيل خليك كمولدات.

ويعتبر مستوى الإمداد بالسكر والأكسجين هاماً جداً للتخمر، وخصوصاً أن مستوى الأكسجين يعتبر عاملاً حرجاً نظراً للزوجة الزائدة لبيئة التخمر والذى يؤثر على إنتقال الأكسجين. وتتطلب عملية التخمر إلى 0.4 - 1.0 ملليمول أكسجين لكل لتر لكل دقيقة ويصل الـ R.Q (مول Co_2 يتكون / مول أكسجين مستهلك) إلى 0.95 . ويوضح شكل رقم 22-13 مثال تخطيطى للمكونات المستهلكة والمواد الناتجة من التخمر. وعملية التخمر الصناعى تتميز بمعدل النمو العالى لمدة يومين، ثم ينخفض معدل النمو ويزداد معدل تكوين البنسلين

ويستمر الإنتاج لمدة تصل إلى 6 - 8 أيام بشرط التغذية المستمرة بمواد التخمر.



شكل رقم 22 - 13 : إنتاج البنسلين بواسطة التخمير

المصدر : Ward (1989).

إنتاج التتراسيكلينات : Tetracyclines production

التركيب الأساسى للتتراسيكلينات هو حلقة naphthacene والتتراسيكلينات ذات الأهمية الطبية الناتجة بالتخمر أو بطريقة نصف تخليقية تختلف فى عمليات الإستبدال على الحلقة. وتعتبر الكلوروتتراسيكلين Chlorotetracycline والأكسيتراسيكلين Oxytetracycline هى المركبات الأساسية التى ينتجها الجنس *Streptomyces* بينما التتراسيكلين فإنه عادة ما ينتج بكميات قليلة. أما طفرات الـ *Streptomyces aureofaciens* التى لا تستطيع الكلورة

Block the Chlorination فإنها تكون التتراسيكلين كمركب أساسى.

تعتبر عملية تخليق الكلوروتتراسيكلين عملية معقدة تتضمن 72 مركب وسطى ويحكم عملية التخليق الحيوى أكثر من 300 جين. المعدل الحالى لإنتاج التتراسيكليات هو20000 ميكروجرام لكل مل ونظراً لتعقد مسار تخليق هذه المركبات فإن الطريق الأساسى لتحسين الإنتاج هو تكوين الطفرات والإنتخاب. ويتم إنتخاب سلالات تستطيع تحمل التركيز العالى من المضاد الحيوى وذلك لتحسين الإنتاج.

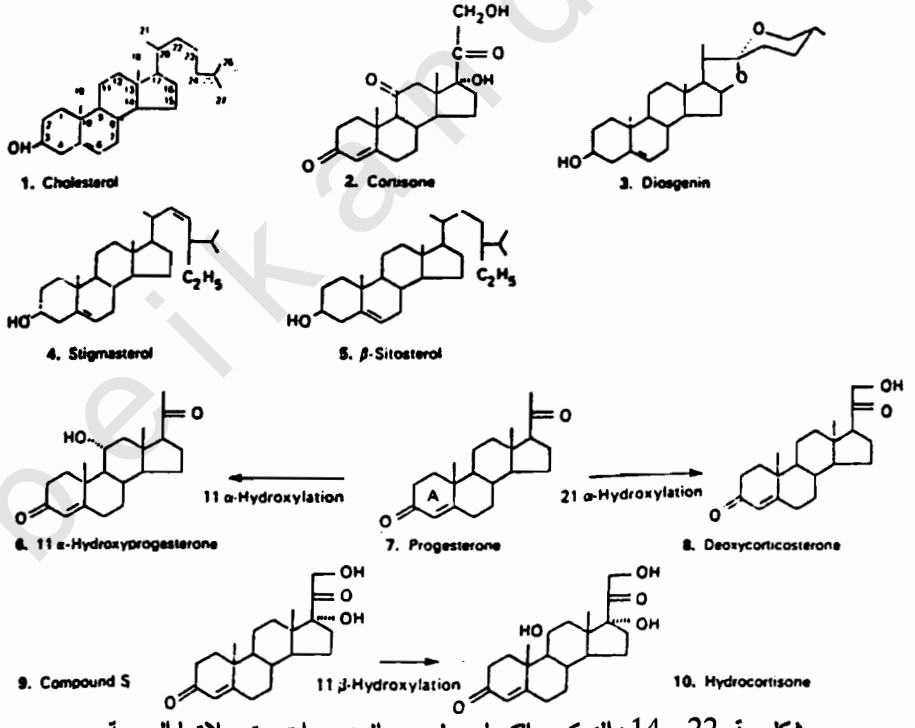
وتتكون بيئة التخمر من السكروز ومنقوع الذرة وفوسفات الأمونيوم والأملاح المعدنية ويتم الإنتاج عند pH 5.8 - 6.0. وعند درجة حرارة28 °م. ويتطلب الإنتاج معدل تهوية عالية خصوصاً فى مرحلة تنمية وإنتاج خلايا الميكروب. ويلاحظ أنه إذا استخدم الجلوكوز فى البيئة فإنه يجب أن يضاف بطريقة التغذية المستمرة. ونظراً لأن الفوسفات يثبط تكوين التتراسيكلين فإن عملية التخمر تتم فى ظروف نقص الفوسفات.

وعند إنتاج الكلوروتتراسيكلين بطريقة المزرعة المغمورة فإن عملية التخمر تنقسم إلى ثلاثة مراحل. تتميز المرحلة الأولى بتكوين سريع للكتلة الحيوية وبالتالى إستهلاك عالى للمواد الغذائية، ويتميز الميسليوم فى هذه المرحلة بتكوين هيفات سميكة محبة للقاعدية قاعدية التأثير مرتفعة فى نسبة الـ RNA. وفى المرحلة الثانية يقل معدل النمو وقد يتوقف ويحدث أعلى معدل لإنتاج المضاد الحيوى، ويحدث النضج والتمييز للميكروب وتظهر الهيفات رفيعة وتنخفض نسبة الـ RNA فيها. وفى المرحلة الثالثة ينخفض تكوين المضاد الحيوى ويحدث تجزء للميسيليوم fraqmentation ويبدأ فى التحلل.

وينتج *Streptomyces aureofaciens* نسبة معينة من التتراسيكلين علاوة على الكلوروتترسيكلين ويعتبر أيون الكلورين هام لتكوين الكلوروتتراسيكلين خصوصاً بواسطة الطفرات عالية الإنتاج. بينما مواد أخرى مثل أيونات الفلوريد والنحاس والميثيونين و 5-fluorouracil تثبط إنتاج التتراسيكليات. ويعتبر وجود تركيز منخفض من الكلورين أساس فى البيئة لإنتاج التتراسيكلين بواسطة ميكروب *S. aureofaciens* أما مركب الأوكسى تتراسيكلين Oxy- tetracycline فيكونه ميكروب *S. rimosus* فى ظروف نقص الفوسفات.

22 - 12 - 2 الأستورويدات : Steroids

يتم إنتاج العديد من الأستورويدات بطرق تدخل عمليات التخمر فى بعض خطواتها – ويوضح شكل رقم 22-14 بعض هذه المركبات وبعض الخطوات الخاصة بتحويلاتها البيولوجية، وتلعب الأستورويدات دوراً هاماً فى علاج بعض الأمراض والإصابات. وفى الأربعينات من القرن العشرين أمكن إستخدام الكورنيكوستورويدات Corticosteroids والكورتيزون Cortisone والكوريتزول Cortisole (هيدروكورتيزون) بنجاح فى علاج الأمراض الإلتهابية وأمراض الحساسية. وبالتالى درست عديد من المركبات النباتية والحيوانية لإمكانية إستخدامها كأساس لبناء هذه المركبات، ولقد أوضحت الدراسات أن هذه المركبات لا يمكن إنتاجها من الكوليستيرول. بينما ظهر أن الـ diosgenin (من جذور نبات barbasco) والـ Stigmasterol (من زيت فول الصويا) يمكن أن يمثل مواد مناسبة لإستخدامها فى تخليق البروجيستيرون والبريجنينولون pregnenolone على التوالى.



شكل رقم 22 - 14 : التركيب الكيماوى لبعض الستورويدات وتحويلاتها الحيوية

المصدر : Ward (1989).

والتقدم الحقيقى فى مجال إستخدام النشاط الميكروبى فى إنتاج الإستروييدات هو ذلك الذى قام به Hurray & Peterson عام 1952 حيث أمكنهم تحويل البروجيستيرون إلى 11- α -hydroxyprogesterone وذلك بإستخدام فطر *Rhizopus arrhiza* وتلى ذلك إكتشاف عديد من عمليات التحول الميكروبى المحدثة لتغييرات فى مواضع مختلفة فى جزيئات الأستروييدات . ومن بين التغييرات فى الأستروييدات التى تلعب فيها الميكروبات دوراً هاماً هى 11- hydroxylation ، 16 -α- hydroxylation ، 1 - hydrogenation .

فى عمليات تحول الأستروييدات بيولوجياً فإن الميكروب المحتوى على الإنزيم اللازم للتحول يتم إنتاجه بطرق المزرعة المغمورة الإعتيادية تحت ظروف تسمح بإنتاج الإنزيم. وبعد إنتاج الميكروب المحتوى على الإنزيم يتم إضافة الأستروييدات غير الذائبة فى الماء للمزرعة فى شكل مسحوق وتقلب أو تذاب فى مذيب عضوى وتبدأ عمليات التخمر المتطورة التى تستخدم فيها تركيزات عالية من الأستروييدات ، ويتم إستخلاص الناتج بالترشيح ويتم فصله مع الكتلة الميكروبية ثم يتم فصل المنتج النهائى بإستخلاصه بمذيب عضوى.

22 - 12 - 3 قلاويدات الإرجوت : Ergot alkaloids

لبعض هذه المركبات العديد من الإستخدامات العلاجية عند تنقيتها واستخدامها بجرعات متحكم فيها من بينها علاج الصداع النصفى Ergotamine ونزف ما بعد الولادة ergometrine و مركبات الإرجوت التى تكونها سلالات مختلفة من العفن Claviceps وهو فطر أسكىAscomycete الكثير منها يعتبر سموم فطرية والتركيب الأساسى لهذه المركبات يتكون من d - lysergic acid أو مشابهة الفراغىd - isolysergic acid مرتبط ببيتيد ثلاثى الحلقات Tricylic peptide أو كحول أمينى بواسطة رابطة أميد amide bond .

ويمكن إنتاج هذه المركبات بطرق كيماوية ولكنها طرق مكلفة. ويتم إنتاج هذه المركبات بإجراء عدوى صناعية لزهور الراى بفطرClaviceps ثم بعد الحصاد يتم إستخلاص الأسكلوروشيات Sclerotia الخاصة بالفطر ، ويلاحظ أن هذه الطريقة يعتمد على موسم إنتاج نبات الراى وعلى الحالة الجوية.

وهناك ثلاث أنواع من فطر Claviceps يمكن إستخدامها لإنتاج مركبات الإرجوت تخميرياً وهى *C. fusiforms* ، *C. paspali* ، *C. purpurea* ولقد كانت السلالة الأصلية القديمة من *C. paspali* تنتج فقط 20 ميكروجرام / لتر ولقد أمكن من خلال تحسين السلالات وطرق الإنتاج الإرتفاع بالإنتاج إلى 5 جرام / لتر. ويتوقف تركيب القلاويد الناتج على نوع السلالة وعلى ظروف الإنتاج التخميرى. ويرتبط الإنتاج المرتفع من القلويدات بقدرة السلالة على الإستهلاك العالى للسكروز والسترات فى نفس الوقت فى بيئة فقيرة فى الفوسفات.

22 - 12 - 4 المنتجات الميكروبية بإستخدام الهندسة الوراثية :

يعتبر ميكروب *E. coli* أكثر الميكروبات إستخداماً لإنتاج كثير من المواد المرتبطة بإستخدام الهندسة الوراثية نظراً لأن التركيب الوراثى لهذا الميكروب أصبح معروفاً مما يساعد على إمكانية التعبير عن عديد من الجينات فيه علاوة على سهولة تنميته فى بيئات محدودة وبكميات كبيرة. أول المركبات ذات القيمة العلاجية التى أمكن إنتاجها بتقنية الهندسة الوراثية هو الأنسولين البشرى حيث أمكن إنتاج هذا الهرمون تخميرياً بإستخدام سلالة *E. coli* المعدلة وراثياً. وطبقاً لشركة Eli lilly & Co. المنتجة لهذا الهرمون فإنه مماثل تماماً للهرمون البشرى كيماوياً وفيزيائياً كما أمكن لشركة Novo إنتاج هذا الهرمون على مستوى تجارى وحالياً يتم إنتاج الأنسولين بإستخدام خميرة منقول لها الجين الخاص بإنتاج الأنسولين.

وأمكن أيضاً إنتاج هرمون النمو الإنسانى بإستخدام *E. coli* معدل وراثياً وهو ينتج حالياً على نطاق تجارى ويستخدم لعلاج حالات نقص النمو أو التقزم فى الإنسان كما أمكن إنتاج Interleukin 2 أو عامل نمو الخلايا الدموية الليمفاوية بإستخدام *E. coli* المعدل وراثياً. وهو يشجع خلايا T. cells على مهاجمة بعض أنواع السرطان.

أما الإنترفيرونات Interferons فهى بروتينات تنتجها الخلايا الحيوانية كإستجابة مناعية ضد الإصابة الفيروسية. وتساعد فى محاولة منع الفيروس من غزو الخلايا السليمة. كما تلعب هذه المركبات أيضاً دوراً فى مقاومة بعض أنواع الأورام الخبيثة، ولقد أمكن

إستخدام الـ *E. coli*، بإدخال الجين الخاص، فى إنتاج α-interferons تجارياً وإستخدم بكثرة فى العلاج. كما إنتجت β , γ interferons الإنسانية أيضاً بإستخدام *E. coli* المعدل وراثياً كما أمكن إنتاج إنترفيرونات الخاصة بالحيوان بنفس الطريقة، كما أمكن أيضاً إنتاج الألبيومين البشرى تخميرياً بطرق مشابهة ... وغيرها من المواد الهامة علاجياً.

ورغم الإستخدامات الواسعة لميكروب الـ *E. coli* فى إنتاج عديد من المركبات العلاجية الهامة جداً عن طريق الهندسة الوراثية إلا أنه يعاب على هذا الميكروب عديد من العيوب مما أدى إلى البحث عن بدائل له. حيث أن ميكروب الـ *E. coli* سالب لجرام وبالتالى لا يفرز البروتينات المعبر عنها وراثياً خارج الخلايا بسهولة كما أن الميكروب يحتوى على توكسينات داخلية enterotoxins وأيضاً سكريات ليبيدية لها تأثيرات معوية يتطلب الأمر إزالتها من المنتج النهائى على أن يكون سليماً للإستخدام فى العلاج.

ولقد أجريت دراسات لإستخدام الـ *Bacillus subtilis* كبديل لإستخدامه كحامل للتعبير عن الجينات فى الهندسة الوراثية حيث يتميز بعدم وجود سلالات مرضية وينمو بسهولة تحت الظروف الهوائية ولا يكون سكريدات ليبيدية ضارة والبروتينات المتكونة تفرز بسهولة خارج الخلايا. ومع هذا يعاب على هذا الميكروب أنه على عكس الـ *E. coli* فإن الجينات الغريبة التى يتم إدخالها فيه ينخفض معدل التعبير عنها بسهولة.

كما أستخدمت الخميرة كأداة للتعبير الجينى حيث تتميز الخميرة بأنها تدخل فى تركيب غذاء الإنسان من زمن طويل ولهذا فهى آمنة للإستخدام وهى خالية من السكريات الليبيدية الضارة وأن البروتين الناتج يفرز خارجياً بسهولة. ورغم ذلك فإن التعبير عن الجينات داخل الخميرة أقل من *E. coli* وقد أستخدمت الخميرة فى إنتاج بعض الفاكسينات وهرمون النمو وغيرها من المركبات.

22 - 12 - 5 الفاكسينات : Vaccines

الفاكسينات المستخدمة للوقاية من الأمراض عديدة منها الخلايا الميكروبية أو الفيروسات الحية أو الميتة وإفرازات ميكروبية طبيعية أو معدلة مثل التوكسينات وأجزاء من الخلايا أو الفيروسات. ويلاحظ فى حالة الفاكسينات الحية فإن الميكروب المستخدم يكون

قادراً على التكاثر داخل الكائن المستقبل له فمثلاً نجد أن كفاءة فاكسين*Mycobacterium tuberculosis* تعتمد لحد ما على تكاثره داخل جسم الإنسان وأيضاً فإن فاكسين فيروسى شلل الأطفال Poliovirus مثال آخر للفاكسينات الحية.

ويلاحظ أن الفاكسينات الحية تم تحويلها إلى صورة غير ضارة بعملية ترويض attenuation يفقدها قدرتها الإمراضية. وهناك بديل آخر فى حالة الفاكسينات الحية. وهو إنتاجها من بكتريا أو فيروسات قريبة من الميكروب الممرض ولكنها غير قادرة على إحداث المرض وفى نفس الوقت يمكنها إحداث المناعة ومثال ذلك فاكسين الجدرى.

أما الفاكسينات الميتة فهى إما خلايا كاملة أو بعض مكونات الخلايا مأخوذة من سلالة مُمرضة تم قتلها أو تثبيطها كيماوياً. ومن الممكن إستخدام منتجات ميكروبية تفرزها الخلايا خارجياً كفاكسينات كما فى حالة التوكسينات، وهذه لابد من إفساد قدرتها السمية بالطرق الكيماوية مع عدم إفساد قدرتها على إحداث المناعة.

تستخدم طرق عديدة لإنتاج الفاكسينات منها ما يلى :

أولاً - الخلايا الميكروبية :

يتم إنتاج الخلايا المستخدمة فى إنتاج الفاكسينات عادة بطريقة المزارع المغمورة فبكتريا السعال الديكى whooping cough وهى *Bordetella pertussis* يتم تنميتها فى بيئة مكونة من كازين متحلل بالحامض Acid hydrolyzed casein وأملاح معدنية وعوامل نمو ويتم الأحتياط من تعرض العاملين أثناء التخمر لخطر الإصابة وذلك عن طريق حصاد الخلايا بالترسيب بالحامض حيث تترسب الخلايا بسرعة عند خفض الـ pH إلى4.0 . ثم يتم قتل الخلايا إما بالحرارة أو كيماوياً أو بهما معاً للحصول على الفاكسين. وبالمثل يتم إنتاج بكتريا التيفود *Salmonella typhi* بإستخدام بيئات مكونة من مصدر نيتروجين معقد وجلوكوز. ويتم فصل خلايا التيفود وإفقادها حيويتها بعمل معلق منها فى الأستيون لمدة24 ساعة على37 °م .

ثانياً - التوكسينات البكتيرية : Bacterial toxins

يتم إنتاج توكسين الدفتريا بتنمية بكتريا *Corynebacterium dephtherium* فى بيئة

معقدة بطريقة المزرعة المغمورة حيث تنمو الخلايا وتفرز التوكسين ويعتبر مستوى الحديد فى البيئة عاملاً هاماً فى إنتاج التوكسين بينما يؤدى زيادة تركيز الحديد عن حد معين إلى تثبيط تكوين التوكسين. ويمثل التوكسين نسبة تصل إلى75 من البروتين تفرزه الخلايا خارجياً ويتم تثبيط الأثر الضار للتوكسين لإستخدامه فى إحداث المناعة بمعاملته بالفورمالدهيد ويتحول إلى توكسويد Toxoid وذلك دون إفقاد أثره المناعى. ويلاحظ أن التخلص من الشوائب من التوكسين يتم بمعاملته بالميثانول فى الوسط الحامضى ثم تجفيده أو أن يتم ذلك بالفصل الغشائى dialysis ثم الفصل على الجلgel filtration وإستخدام الفصل الكروماتوجرافى بإستخدام DEAE - cellulose .

ثالثاً – الفاكسينات الفيروسية :

لإنتاج الفيروسات اللازمة لإنتاج اللقاحات سواء الحية أو الميتة يتم بتنمية الفيروسات على مزارع نسيجية من خلايا حيوانية ويلاحظ أن إنتاج الفيروسات فى أجنة بيض الدجاج لازال أحد التقنيات المتبعة.

ويتم إنتاج فاكسين شلل الأطفال من خليط من ثلاث سلالات مرضية تم تنميتها فى مزرعة نسيجية من خلايا كلية القرد أو خلايا إنسانية ثنائية الكروموسوم deploid (أى خلايا جسمية)، ويتم إفقاد الفيروس حيويته بإستخدام الفورمالدهيد، وبالنسبة لفيروسات الحصبة والنكفية والحمى الصفراء والجدرى فإنها تنمى على أجنة الدجاج ثم يتم ترويضها وإفقادها قدرتها الإمراضية قبل إستخدامها حية فى إحداث المناعة. وأمكن أيضاً إنتاج سلالتين من فيروس الأنفلونزا بتنميتها على أجنة الدجاج ثم تقتل بالفورمالدهيد ... ألخ .

رابعاً : إستخدام بعض مكونات الخلية (أنتيجينات معزولة) :

Isolated antigen vaccines (subunit vaccines)

يلاحظ أن الفاكسينات المكونة من خلايا كاملة كثيراً ما تحتوى على مكونات ضارة يصعب التخلص من أثارها. كما أن بعض الفاكسينات الحية المروضة أو الميتة إذ لم يتم معاملتها بحرص شديد فقد تسبب حالات مرضية، وقد ظهرت إحتمالات ارتداد بعض الميكروبات المروضة للحالة المرضية كما لوحظ من ناحية أخرى عدم ثبات بعض

الفاكسينات أثناء التخزين. لهذا فقد أجريت محاولات لفصل بعض المكونات الخلوية القادرة على إحداث المناعة وليس لها آثار ضارة. وهناك أمثلة كثيرة لنجاح إنتاج مثل هذه المواد. فقد تم إنتاج فاكسين ضد الإلتهاب الرئوىpneumonia مكون من السكريات المعقدة النقية المأخوذة من غلاف (capsule) 14 سلالة من بكتريا *Streptococcus pneumonia* وذلك بإستخدام الفصل بالكحول والطرد المركزى والمعاملة بالمنظفات detergent مثلCETAB وإنزيمات تحليل البروتين والترشيح الدقيق والتجفيد وبالمثل فإن سكريات الغلاف cupsule المعقدة لميكروب *Neisseria meningitidis* سلالة C , A تستخدم لإحداث المناعة ضد الحمى المخية الشوكية.

خامساً : إستخدام الهندسة الوراثية فى إنتاج الفاكسينات

تستخدم تكنولوجيا نقل الـ DNA لإنتاج مكونات أنتيجينية لإنتاج الفاكسينات، فمثلاً الجين المسؤل عن إنتاج جزء من أنتجين سطحى لفيروس الألتهاب الكبدىB أمكن استخدامه لإنتاج هذا الأنتيجين كفاكسين مناسب خلال أعوام 1986 - 1987 . وأمكن إستخدام هذه التقنية لإنتاج لقاحات ضد الأنفلونزا وشلل الأطفال والقوباء الجلدية herpes بطريقة آمنة وهناك محاولات لإنتاج لقاح ضد الإيدز AIDS بنفس التقنية.

22 - 12 - 6 الأجسام المضادة Artibodies

من المعروف أنه عند تعرض الجسم لمواد غريبة لها خواص أنتيجينية ومن ضمنها الميكروبات المرضية فإنه ينتج أجساماً مضادة متخصصة تتحد وتعادل المواد الغريبة وهذا هو الأساس فى إحداث المناعة ضد الأمراض (حيث تشجع الفاكسينات إنتاج الأجسام المضادة للمرض المطلوب إحداث المناعة ضده) . ومن ناحية أخرى فإن إستخدام مضاد السيرم محتوى على الأجسام المضادة فى مجال تشخيص الأمراض وأيضاً لعلاج بعض أمراض الإنسان. ولقد ذكر Ward (1989) أن Milstein, Kohler عام 1975 تمكن من عمل أساس طريقة إنتاج الأجسام المضادة أحادية نقية monoclonal antibodies (MCA_S) بإستخدام طرق بيوتكنولوجية حديثة ومن أمثلة الأجسام المضادة التى أمكن إنتاجها تجارياً بهذه الطريقة مستحضر يمنع طرد الكلى المزروعة ويتم إنتاج أجسام مضادة مختلفة حالياً لهذه الطريقة تصل قيمتها إلى واحد مليار دولار ومن المنتظر أن تصل قيمة المنتجات قريباً إلى سبعة مليارات دولار .

References المراجـــع 13 - 22

Ayres , J. C., J. O. Mundt, and W. E. Sandine, 1980. Microbiology of foods. W. H. Freeman and company sanfrancisco.

Berry , D. R., I., Russell and G. G. Stewart, 1987. Yeast Biotechnology. Allen & Unwin, London, Boston, Sydney.

Brock, T. D., M. T. Madigan, J. M. Martinko, and J. Parker, 1994. Biology of Microorganisms. Prentice Hall, Englewood cliffs, New Jersey.

Campbell - Platt, G. 1987. Fermented foods of the world. Butterworth.London. Boston. Toronto.

Jay, J. M. 1986. Modern Food Microbiology. thirdedition D. Van Nonstrand company.

Peppler, H. J. 1979. Production of yeasts and yeast products. In Peppler, H.J. and Perlman D. (ed): "Microbial Technology, vol. 1", Academic Press Inc., Orlando, Fla.

Reed,G., (1982). Industrial Microbiology. Avi Publishing companing, INC. Westport. Connecticut.

Riviere, J.; M. O. Moss, and J. E. Smith, 1977. Industrial Applications of Microbiology. Surrey University Press in association with International Textbbok company.

Stanton, W. R., E. J. Dasilva, 1978. Global Impacts of Applied Microbiology. Unep / Unesco / ICRO. Panel of Microbiology Secretarial Kuala Lampur Malysia.

Stanbury, P. F., and A. Whitaker 1984. Principles of Fermentation Technology. Pergamon Press, Oxford, Newyork, Paris, Frankfurt.

Ward, O. P.1989. Fermentation Biotechnology Principles, Processes and Products. Johnwiley and Sons. London.

obeikandl.com