الفصل الثالث

تقنية التخمير
FERMENTATION TECHNOLOGY

يوسف شيستي
Yusuf Chisti

(٣, ١) المقدمة Introduction

تستخدم عمليات التخمير الكائنات الحية الدقيقة لتحويل وسط البيئة إلى بعض المنتجات. وينظر إلى التحويلات أو التحويلات الحيوية التي تتم في المختبر من خلال عمل خلايا الحيوانات والنباتات على أنها أيضاً عمليات تخمير. ونظراً للتنوع الهائل في أوساط البيئة الممكنة، والكائنات الدقيقة، والمنتجات، فإنه يمكن أن تكون عمليات التخمير متنوعة للغاية. وتشمل الأمثلة على الكثير من الأنواع المختلفة من المنتجات التي تنتج تخميرياً ما يلي: الخبز والجبن والنبيذ والبيرة، والقهوة، والإنزيمات الطبية والصناعية، والأحماض الأمينية، والمضادات الحيوية، وصلصة الصويا، والسماد، والبوليمرات الحيوية، والبلاستيكات الحيوية، والزيوت الميكروبية، ومكسبات النكهة، والملونات، والمواد الكيميائية المتخصصة، واللقاحات، والبروتينات العلاجية، وغيرها من الكثير من المنتجات.

وتبدأ عملية التخمير بحقن البيئة بالكائن الدقيق المطلوب. ويتم وضع البيئة المحقونة تحت الظروف البيئية التي تساعد على تحويلها إلى المنتج المطلوب. ويمكن استخدام المنتج الخام مباشرةً، أو قد يتم معالجته بشكلٍ أكبر لعزل مركبات جزيئية منه.

(٣, ٢) أنواع التخمير Types of Fermentations

يمكن تصنيف معظم عمليات التخمير المفيدة تجارياً على أنها إما زراعات الحالة الصلبة وإما الزراعات المغمورة. في زراعات الحالة الصلبة، تنمو الكائنات الدقيقة على سطح صلب جاف بالقليل من أو بدون مياه "حرة"، وذلك على الرغم من أن الماء الشعري قد يكون موجوداً [١]. ويمكن مشاهدة أمثلة لتخمير البيئة الصلبة

في صنع الجبن، والخبز والقهوة والسماد [١]. ويمكن أن يستخدم التخمير المغمور [٢، ٣] أوساط ذائبة (مثل محلول السكر) أو وسط صلب معلق في كمية كبيرة من الماء لتشكيل معلق كثيف. وتستخدم التخميرات المغمورة في إنتاج البنسيلين، والإنسولين المعدل، والبيرة، والكثير من المنتجات الأخرى.

ويمكن تقسيم كلٍ من التخميرات الصلبة أو المغمورة إلى عمليات هوائية تتطلب الأوكسجين وعمليات لاهوائية والتي يجب أن تتم في غياب الأوكسجين. وتشمل أمثلة التخميرات الهوائية المغمورة إنتاج المضاد الحيوي البنسيلين باستخدام فطر البنسيليوم كريزوجينوم. ويتم إنتاج منتجات اللحوم المخمرة مثل الببروني والسلامي بالتخميرات اللاهوائية الصلبة. ويحدث تخمير لاهوائي مغمور في صناعة الزبادي.

وقد تتطلب التخميرات نوع واحد فقط من الميكروبات لإحداث التغيير الكيميائي الحيوي المطلوب، أي أنها تكون أحادية الكائن. وفي هذه التخميرات يجب تعقيم البيئة لقتل الكائنات الحية الدقيقة غير المرغوب فيها قبل التلقيح بالكائن المرغوب. وتستخدم التخميرات أحادية الكائن أو الزراعات الأحادية لإنتاج الكثير من المنتجات الدوائية مثل الإنسولين. وتتطلب تخميرات كثير من المواد الغذائية وعمليات معالجة المخلفات الحيوية مشاركة عدة أنواع من الميكروبات، أو الزراعات المختلطة، التي تعمل في وقتٍ واحد و/ أو بالتتابع.

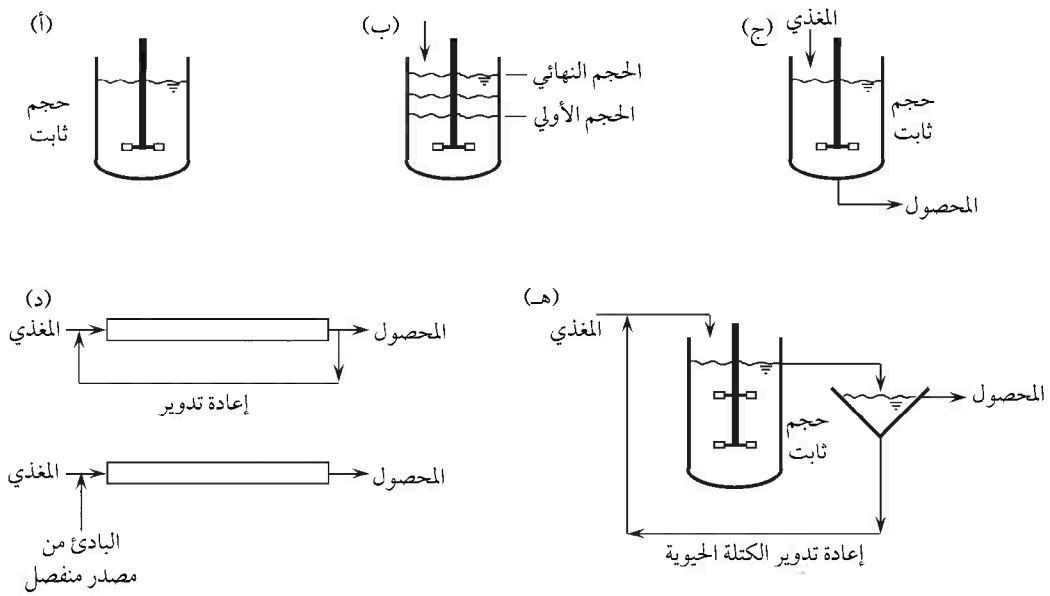
(٣,٣) عملية التخمير Fermentation Process

يمكن إجراء التخميرات الصناعية إما على دفعة واحدة، وإما على عملية تغذية على دفعات، وإما زراعات مستمرة (الشكل رقم ١,٣) [٢]. وعمليات الدفعة الواحدة أو التغذية على دفعات هي الأكثر شيوعاً؛ والتخمير المستمر يكون نادراً نسبياً. وتجرى عادةً معالجة مياه الصرف الصحي بطريقة الحمأة المنشطة كعملية تخمير مستمرة. ويجرى تخمير البيرة ومعظم المضادات الحيوية باستخدام عمليات الدفعة الواحدة أو التغذية على دفعات.

في عمليات الدفعة الواحدة (الشكل رقم ١,٣ أ)، يتم حقن دفعة من بيئة الزراعة في المخمر بسلالة ميكروبية، أو "المزرعة البادئة". ويستمر التخمير لمدة معينة ("وقت الدفعة" أو "وقت التخمير") ويتم حصاد المنتج. ويمتد التخمير أحادي الدفعة عادةً لأكثر من ٤-٥ أيام، ولكن قد تستمر بعض تخميرات المواد الغذائية التقليدية إلى عدة أشهر. وفي تخميرات التغذية على دفعات، تتم إضافة بيئة الزراعة المعقمة إما بشكلٍ مستمر وإما بشكلٍ دوري إلى بيئة التخمير الملقحة (الشكل رقم ١,٣ ب). ويزداد حجم محلول التخمر مع كل إضافة إلى البيئة. ويتم حصاد المزرعة بعد وقت التخمير. ويمكن أن يتغير تركيب بيئة التغذية مع مرور الوقت.

في التخمير المستمر، يتم تغذية المخمر بالبيئة المعقمة باستمرار ويتم سحب منتج التخمير باستمرار، وعليه لا يتغير حجم التخمير (الشكل رقم ١,٣ ج). وعادةً، يبدأ التخمير المستمر بوصفه مزرعة دفعة واحدة وتبدأ

التغذية بعد أن تصل الكثافة الميكروبية (عدد الميكروبات) إلى تركيزٍ معين. وفي بعض التخميرات المستمرة، يمكن إعادة تدوير جزء صغير من المزرعة التي تم حصادها، لتلقيح بيئة التغذية المعقمة الداخلة إلى المخمر باستمرار (الشكل رقم ١ ,٣ د). وتعتمد أهمية التلقيح المستمر على نوع الخلط في المخمر. ويجب تلقيح أجهزة تخمير التدفق المسدود (Plug-flow) مثل الأنابيب الطويلة التي لا تسمح بالخلط الرجعي، باستمرار. وتتصرف عناصر السائل المتحرك عبر جهاز التدفق المسدود مثل مخمرات صغيرة إحادية الدفعة. وعليه، فإن عمليات الدفعة الإحادية الحقيقية يمكن تحويلها بسهولةٍ نسبية إلى عمليات مستمرة في مخمرات التدفق المسدود، وبخاصة إذا لم يكن التحكم في درجة الأس الهيدروجيني والتهوية مطلوباً. وتتعرض زراعات التخمير المستمر بشكلٍ خاص للتلوث الميكروبي، ولكن في بعض الحالات يمكن اختيار ظروف التخمير لصالح الكائنات الدقيقة المطلوبة (على سبيل المثال درجة أس هيدروجيني منخفضة، ودرجة كحول عالية، أو محتوى الملح) بدلاً من أي ملوثات محتملة.



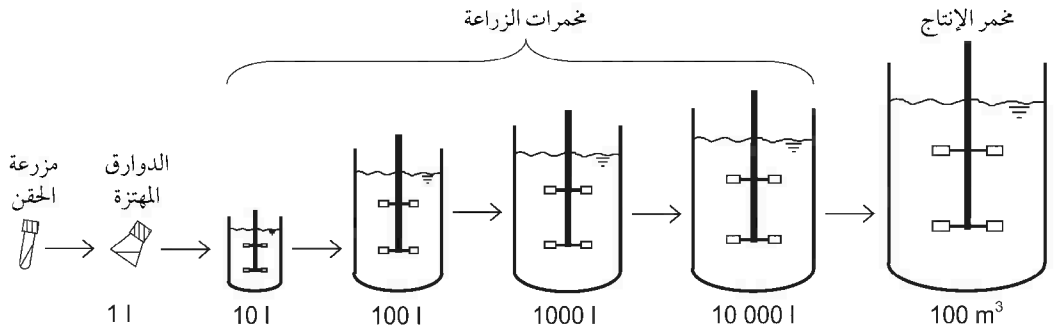
الشكل رقم (١ ,٣). طرق التخمير. (أ) تخمير الدفعة الواحدة؛ (ب) التخمير متعدد الدفعات؛ (ج) التخمير متواصل التدفق ذو الخلط الجيد؛ (د) تخمير التدفق المسدود المتواصل مع وبدون إعادة التدزير؛ (هـ) التخمير المتواصل جيد الخلط مع إعادة تدوير الكتلة الحيوية المركزة.

في مخمر مستمر "جيد الخلط" (الشكل رقم ١ ,٣ ج)، يجب أن يتم ضبط معدل تغذية البيئة بحيث يبقى معدل التخفيف الذي هو نسبة معدل التغذية الحجمي إلى حجم البيئة الثابت، أقل من معدل النمو النوعي الأقصى للكائن الدقيق في البيئة المحددة وتحت ظروف التخمير المحددة. وإذا تجاوز معدل التخفيف معدل النمو النوعي الأقصى

فسوف يتم غسل الكائن الدقيق إلى خارج المخمر. ويتم في بعض التخميرات المستمرة جيدة الخلط تركيز جزء من الكتلة الحيوية في تيار الحصاد وإعادة تدويرها إلى وعاء التخمير (الشكل رقم ١ , ٣ هـ). وتتيح إعادة تدوير الكتلة الحيوية زيادة معدل التخفيف أعلى من القيمة التي من شأنها أن تؤدي إلى غسيل الخلايا خارج المخمر في غياب إعادة تدوير الكتلة الحيوية. ويزيد معدل التخفيف المرتفع من إنتاجية المخمر. وتستخدم عمليات التخمير المستمر جيدة الخلط مع إعادة تدوير الكتلة الحيوية عادة في معالجة مياه الصرف الصحي بطريقة الحمأة المنشطة.

(١ , ٣ , ٣) تحضير اللاقح Inoculum Generation

تكون التخميرات الصناعية غالباً عمليات أحادية الدفعة. وعادةً تستخدم مزرعة بادئة نقية (البادئ)، موضوعة تحت ظروف محكمة بعناية، في حقن أطباق بتري معقمة أو بيئة سائلة في دوارق الهز. وتستخدم المزرعة الأولية بعد النمو الكافي في حقن المخمر البادئ. وحيث إن المخمرات الصناعية يمكن أن تكون كبيرة جداً (على سبيل المثال، ١٥٠–٢٥٠م^3)، فإنه يتم تجهيز اللاقح من خلال مراحل عديدة متتالية، من ٥ إلى ١٠٪ من حجم العمل لمخمر الإنتاج. وتضمن هذه الإستراتيجية الاستخدام الأمثل لمخمر الإنتاج عن طريق تقليل وقت الدفعة في هذا الوعاء. ويوضح الشكل رقم (٢ , ٣) قطار لإنتاج اللاقح لمخمر إنتاج ١٠٠م^3. وتقلل مدة التخمير الطويلة بشكلٍ مفرط (وقت التخمير) من الإنتاجية (أي كمية المنتج المكونة لكل وحدة زمن لكل وحدة حجم من المخمر)، وتزيد التكاليف. وأحياناً يتم نفخ جراثيم اللاقح المنتجة كبادئ، مباشرةً إلى مخمر كبير مع الهواء الداخل. وفي مزارع الخلايا الحيوانية، يتم عموماً تحديد حجم اللاقح ليعطي عدد أولي من الخلايا من ٢–٤ × ١٠^5 خلية/مل.

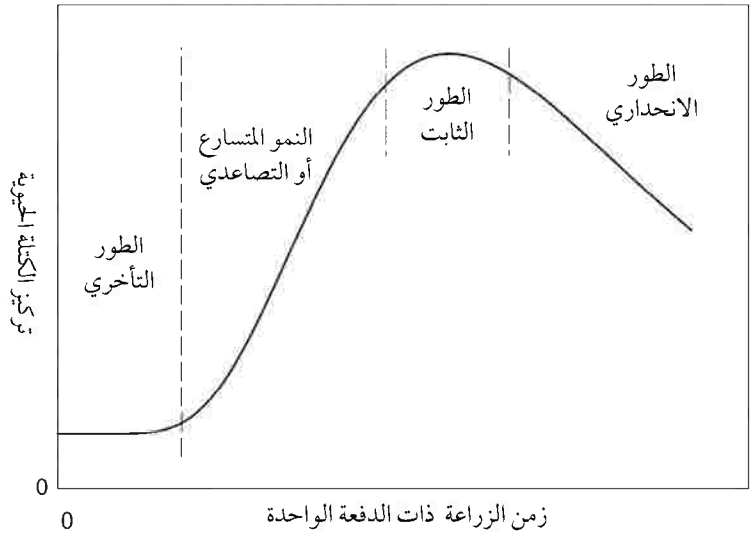


الشكل رقم (٢ , ٣). تحضير اللاقح لمخمر إنتاج كبير.

(٢ , ٣ , ٣) النمو وتكوين المنتج Growth and Product Formation

يتبع النمو الميكروبي في مخمر أحادي الدفعة حديث التلقيح عادةً النمط المبين في الشكل رقم (٣ , ٣). بدايةً، في الطور التأخري لا يزيد تركيز الخلايا كثيراً. ويعتمد طول الطور التأخري على تاريخ نمو اللاقح، وتركيب

البيئة، وكمية المزرعة المستخدمة للتلقيح [٣]. ويقيد الطور التأخري الطويل بشكلٍ مفرط المخمر بصورة غير منتجة، ولذلك ينبغي تقليل طول الطور التأخري. وتتحقق أطوار تأخرية قصيرة في الحالات التالية: تطابق تركيز بيئة الزراعة والظروف البيئية في مزرعة البادئ ووعاء الإنتاج (ومن ثمَّ تقل الحاجة إلى الوقت للتكيف)، وصغر صدمة التخفيف (أي استخدام كمية كبيرة من اللاقح)، وكون خلايا اللاقح في آخر طور النمو الأسي [٣]. ويعد الطور التأخري هو في الأساس مرحلة تكيف في البيئة الجديدة. ويلي الطور التأخري مرحلة النمو الأسي المتسارع، والتي تتزايد خلالها كتلة الخلايا اطرادياً. وفي النهاية حيث يتم استهلاك المواد الغذائية وتتراكم المنتجات الأيضية المثبطة فإن المزرعة تدخل طوراً ثابتاً. وفي نهاية المطاف، يسبب التجويع موت الخلايا وتحللها، وعليه ينخفض تركيز الكتلة الحيوية.



الشكل رقم (٣,٣). مظاهر النمو الرئيسة للكائنات الحية الدقيقة في مزرعة ذات دفعة واحدة مغمورة.

وخلال النمو – المتسارع، يعتمد الوقت المطلوب من قبل الكتلة الحيوية لتتضاعف (وقت التضاعف، t_d) على معدل النمو النوعي (معدل النمو لكل وحدة كتلة الخلية، μ)، على النحو التالي:

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu} \qquad (٣,١)$$

ويظهر الجدول رقم (٣,١) أوقات التضاعف النموذجية لمختلف أنواع الكائنات الدقيقة والخلايا [٣]. تنمو البكتيريا عادةً أسرع من الخمائر، والخميرة تتكاثر بشكلٍ أسرع من الفطريات. ويكون تركيز الكتلة الحيوية الأقصى في التخميرات الميكروبية أحادية الدفعة المغمورة هو عادةً ٤٠–٥٠ كجم/م^٣ [٢]. ويميل التركيز الأقصى في المزارع المعلقة أحادية الدفعة للخلايا الحيوانية إلى أن يكون حوالي ٤×١٠^٦ خلية/ مل، أو أقل.

الجدول رقم (١ , ٣). أوقات التضاعف النموذجية.

نوع الخلية	وقت التضاعف (t_d)، دقيقة
البكتيريا	٢٠-٤٥
الخميرة	٩٠
الفطريات	١٦٠
البروتوزوا	٣٦٠
الهايبريدوما	٦٣٠-١٢٦٠
الخلايا النباتية	٣٦٠٠-٦٦٠٠

ويمكن للتركيز العالي من وسط التفاعل أن يحد من النمو، مثلاً عن طريق خفض نشاط المياه. علاوةً على ذلك، تحول بعض الأوساط البيئية المعينة دون تكوين المنتج، وفي حالاتٍ أخرى، قد يمنع منتج التخمير نمو الكتلة الحيوية. فعلى سبيل المثال يمكن أن يكون الإيثانول المنتج في تخمير السكر بواسطة الخميرة مثبطاً للخلايا. ويمكن أحياناً مشاهدة أطواراً متعددة للنمو التأخري (النمو الثنائي) عند توافر اثنين أو أكثر من الأوساط البيئية المدعمة للنمو [٣]. وتدخل الخلايا طوراً متأخراً عند استهلاك الوسط الذي يفضل استخدامه أولاً، حتى يتم تجهيز الميكنة الحيوية لاستهلاك الوسط الآخر. ثم يتم استئناف النمو.

ويمكن تصنيف المنتجات الميكروبية إلى منتجات الأيض الابتدائية أو الثانوية. ومنتجات الأيض الابتدائية هي المنتجات التي لا غنى عنها لبقاء الخلايا الميكروبية على قيد الحياة. وعادةً ما يرتبط تخليق منتجات الأيض الابتدائية مباشرةً بمعدل نمو الكتلة الحيوية. وحمض الستريك والأحماض الأمينية هي أمثلة على الأيض الابتدائي. ومنتجات الأيض الثانوية هي المنتجات التي ليست ضرورية للبقاء ولكنها تخدم وظائف مختلفة مفيدة. وتشمل أمثلة منتجات الأيض الثانوية معظم المضادات الحيوية. وغالباً ما يتم إنتاج منتجات الأيض الثانوية بعد توقف النمو. ويمكن أن تكون الظروف المفضلة للنمو مختلفة تماماً عن تلك التي تساعد على إنتاج منتجات الأيض الثانوية. ومن الضروري لنجاح سير عملية التخمير أن يتم فهم العلاقة بين نمو الكتلة الحيوية وتكوين المركب.

(٤ , ٣) تصميم بيئة التخمير Fermentation Medium Design

يجب أن تكون بيئة التخميرة جيدة التصميم غير مكلفة، ومتوفرة بسهولة، وذات جودة ثابتة، ويجب أن تحتوي على جميع العناصر الكيميائية المطلوبة لإنتاج كمية معينة من الكتلة الحيوية والمنتجات الأيضية. في كثيرٍ من الأحيان، تحتوي البيئة على زيادة من المواد المغذية. وتمتلك الكائنات الدقيقة والخلايا الصيغة العامة $CH_xN_yO_z$.

ويوضح الجدول رقم (٢ , ٣) قيم المتغيرات x، y، و z لأنواعٍ شائعة من الخلايا [٣]. ولذلك، يجب أن تحتوي بيئة التخمير على مصادر للكربون والنيتروجين، والأكسجين من أجل دعم النمو وتكوين المنتج. وفي معظم الحالات، يتم توفير الأوكسجين بواسطة التهوية المستمرة لبيئة التخمير. وعادةً ما يوفر الكربون في شكل السكريات أو النشا. ويمكن توفير النيتروجين في شكل أملاح غير عضوية أو مركبات عضوية تحتوي على النيتروجين (على سبيل المثال منتجات تحلل البروتين). وقد تحتاج البيئة إلى المغذيات الدقيقة مثل الفيتامينات. ومن المطلوب وجود كميات ضئيلة من العناصر مثل الفوسفور، والحديد، والزنك، والكبريت.

الجدول رقم (٢ , ٣). قيم المتغيرات x، y، و z.

نوع الخلايا	X	y	Z
الخميرة والبكتيريا	١,٦٥-١,٨٥	٠,١٢-٠,٢٥	٠,٢٦-٠,٥٦
خلايا نباتية مزروعة	١,٦٠-٢,٠٠	٠,١١-٠,١٧	٠,٦٢-٠,٨٣

وقد تكون بيئة التخمير "معرفة أو محددة"، أي أن تركيبها الكيميائي معروف تماماً. وبدلاً من ذلك، قد تكون بيئة التخمير "معقدة"، أو أن تركيبها المحدد غير معروف بالضبط. وغالباً ما تكون البيئات المعتمدة على منتجات طبيعية معقدة مثل دبس السكر أو مستخلص الخميرة غير محددة تماماً من حيث المكونات المحددة التي تحتويها. وتستخدم البيئات المعقدة في الكثير من التخميرات الصناعية لأنها عادةً ما تكون أقل تكلفة من البيئات المحددة. وتستخدم البيئات المحددة في كثيرٍ من عمليات زراعة الخلايا الحيوانية.

وقد تختلف البيئات للحصول على النمو الأمثل وتكوين المنتج. ويتطلب إنتاج منتجات أيضية معينة وجود مركبات مرادفات خاصة في البيئة.

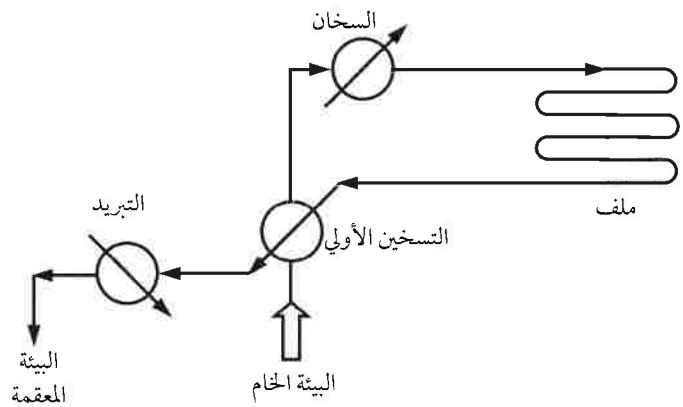
(٣ , ٥) تعقيم الهواء وبيئة التخمير Sterilization of Air and Fermentation Medium

في معظم التخميرات الصناعية، يجب تعقيم البيئة الغذائية وأي هواء يستخدم لإمداد الأوكسجين؛ وذلك لمنع التلوث بالميكروبات غير المرغوب فيها. ويتم تعقيم الهواء دائماً بعملية الترشيح من خلال مرشحات ذات غشاء كاره للماء [٣، ٤]. وتتوافر مرشحات غشائية تحتفظ بالجزيئات الصغيرة حتى ٠,١ ميكرومتر، أو أساساً جميع الكائنات الدقيقة.

ويمكن تعقيم بيئة الزراعة مع المخمر، أو يمكن ملء المخمر سبق التعقيم بدفعة من البيئة الغذائية المعقمة بشكلٍ منفصل. وعادةً ما يتم تعقيم المخمر والبيئة عن طريق التسخين إلى ١٢١ درجة مئوية، والتثبيت في هذه

الحرارة لمدة ٢٠-٣٠ دقيقة. ويتم تعقيم البيئات الحساسة لدرجة الحرارة التي لا تحتوي على أي مواد صلبة معلقة من خلال الترشيح بواسطة مرشحات غشائية محبة مصنفة بدرجة مطلقة. وعادةً ما يتم تعقيم البيئات التي تستخدم في زراعة الخلايا الحيوانية بالترشيح فائق الغشائية. وفي بعض التخميرات الميكروبية، يمكن تعقيم جزء من البيئة بواسطة الحرارة، ويتم تعقيم المكونات الحساسة للحرارة بشكلٍ منفصل من خلال الترشيح. ويتم ترشيح الماء ومحاليل الأملاح بشكلٍ غير مكلف بالترشيح الفائق.

ويستهلك تعقيم كميات كبيرة من البيئة كدفعة واحدة في المخمر الوقت، لكون عمليات التسخين والتبريد بطيئة. وللتغلب على هذا، غالباً ما تستخدم عملية تعقيم مستمرة (الشكل رقم ٤ ,٣) [٣]. وفي التعقيم المستمر يتم تسخين البيئة الخام من درجة حرارة الغرفة إلى درجة حرارة أعلى قليلاً (التسخين الأولي). وتمر البيئة السابق تسخينها خلال سخان يرفع درجة الحرارة إلى نحو ١٥٠ درجة مئوية. ثم تمر البيئة الساخنة خلال "ملف بقاء"، والذي يضمن بقاء البيئة في درجة حرارة ١٥٠ لبضع ثوان (على سبيل المثال، ٢-٤ ثانية). وعندما تغادر البيئة الساخنة المعقمة ملف البقاء، تنتقل حرارتها من خلال جدار معدني إلى البيئة الخام الواردة في التسخين الأولي (الشكل رقم ٤ ,٣). ويتم تبريد البيئة بعد ذلك إلى درجة حرارة التخمير وتنتقل مباشرةً إلى المخمر والذي تم تعقيمه فارغاً.



الشكل رقم (٤ ,٣). التعقيم المتواصل لبيئة التخمير.

(٦ ,٣) العوامل البيئية Environmental Factors

تتأثر عملية التخمير بفعل عوامل عديدة، وتشمل درجة الحرارة، ودرجة الأس الهيدروجيني، وأيونية المحلول، وطبيعة وتركيب البيئة، والأوكسجين المذاب، وثاني أكسيد الكربون المذاب، ومعدلات الإجهاد في المخمر [٥]. كما تؤثر أيضاً طريقة التشغيل (على سبيل المثال، التغذية أحادية الدفعة، التغذية على دفعات، التغذية

المستمرة، التغذية بالمرادفات) والخلط (التدوير خلال البيئات المختلفة) على التخمير [٢]. وقد تؤثر الاختلافات في هذه العوامل على: معدل التخمر؛ طيف وإنتاجية المنتج، وخصائص المنتج (المظهر، والطعم، والرائحة، والملمس)، و تكوين السموم [٦]؛ والجودة الغذائية والخصائص الفيزيائية الكيميائية الأخرى. ويتم إجراء الكثير من التخميرات الصناعية تحت ظروف محكومة بدرجة عالية من حيث درجة الحرارة، ودرجة الأس الهيدروجيني، والأوكسجين المذاب، وغيرها من العوامل المحتملة. وفي المقابل، تجرى التخميرات الغذائية التقليدية مع الحد الأدنى من التحكم. وتعتمد الظروف الخاصة المطلوبة في عملية التخمير على طبيعة الكائن الدقيق، وطبيعة الوسط البيئي وخصائص المنتج المطلوب.

تعتمد متطلبات التخمير من الأوكسجين على نوع الميكروب، وتركيز الخلايا، ونوع الوسط [٢، ٣]. ويجب على الأقل أن يتساوى الإمداد بالأوكسجين مع الحاجة إليه، أو تصبح عملية التخمير محدودة بالنسبة للأوكسجين. ويصبح من الصعب تلبية الحاجة للأوكسجين في محاليل التخميرات اللزجة والمحاليل التي تحتوي على تركيز كبير من الخلايا المستهلكة للأوكسجين. وكدليلٍ عام، تعتمد قدرة إمداد الأوكسجين في المخمر على معدل التهوية، وقوة التقليب، وخصائص بيئة الزراعة. وفي المخمرات الكبيرة، يصبح انتقال الأوكسجين صعباً عندما يتعدى الطلب ٤-٥ كجم/ م^{٣} في الساعة [٢].

وتحت بعض التركيزات الحرجة للأوكسجين المذاب تصبح كمية الأوكسجين محددة للنمو الميكروبي. ويعتمد مستوى الأوكسجين المذاب الحرج على الكائن الدقيق، ودرجة حرارة البيئة، والوسط الذي يتم أكسدته. وكلما زادت القيمة الحرجة للأوكسجين المذاب، زاد احتمال أن يصبح انتقال الأوكسجين محدِداً. وتحت الظروف التي تستخدم عادةً للزراعة، فإن للفطريات مثل البنسليوم كريزوجينوم والأسبرجلس أوريزي قيم حرجة للأوكسجين المذاب حوالي ٢,٣×١٠$^{-٤}$ كجم/ م^{٣} [٢]. وتكون القيم الحرجة للأوكسجين المذاب لخميرة الخباز وإيشيريشيا القولون ٤,٦×١٠$^{-٥}$ و ٨,١٢×١٠$^{-٥}$ كجم/ م^{٣}، على التوالي [٢].

وتولد جميع التخميرات حرارة. في الزراعات المغمورة، ينتج عادةً ٣-١٥ كيلو واط/ م^{٣} من الحرارة من النشاط الميكروبي [٣]. بالإضافة إلى ذلك، ينتج التقليب الميكانيكي للبيئة ما يصل إلى ١٥ كيلو واط/ م^{٣} [٣]. وعليه، يجب تبريد المخمر لمنع ارتفاع درجة الحرارة والإضرار بالمزرعة. وعادةً ما تكون إزالة الحرارة صعبة، لأن درجة حرارة مياه التبريد تكون أقل بعدد قليلٍ من الدرجات من درجة حرارة بيئة التخمير. وتكون التخميرات الصناعية عادةً محدودة بإمكانية انتقال الحرارة. وتعتمد القدرة على إزالة الحرارة على المساحة المتاحة للتبادل الحراري، والفرق في درجة الحرارة بين البيئة ومياه التبريد، وخصائص البيئة والمبرد، والتيارات في هذه السوائل. وتحدد هندسة المخمر مساحة تبادل الحرارة التي يمكن توفيرها. ولأن توليد الحرارة الأيضية يعتمد على معدل

استهلاك الأوكسجين، فإن إزالة الحرارة في الأوعية الكبيرة (المخمرات) تصبح صعبة كلما اقترب معدل استهلاك الأوكسجين من ٥ كجم/ م^{٣} في الساعة [٢].

وبالمقارنة مع الزراعات المغمورة، فإن مستويات الكتلة الحيوية في تخميرات الحالة الصلبة تكون أقل عند ١٠-٣٠ كجم/ م^{٣} [١، ٢]. ومع ذلك ولأن هناك القليل من الماء، فإن توليد الحرارة لكل وحدة من كتلة التخمير يميل إلى أن يكون أكبر بكثير في تخميرات الحالة الصلبة عنه في التخميرات المغمورة [١، ٢]. ويمكن أن ترتفع درجة الحرارة بسرعة بسبب أن هناك القليل من الماء لامتصاص الحرارة. ولوحظ أن توليد الحرارة الأيضية التراكمي في تخميرات الكوجي لمجموعة متنوعة من المنتجات يكون بين ٤١٩-٢٣٨٧ كجم/ كجم من المواد الصلبة [١]. وتخميرات الكوجي هي تخميرات صلبة لفول الصويا أو الحبوب المطبوخة على البخار. وتستخدم هذه التخميرات على نطاقٍ واسع في صناعة منتجات التخمير الآسيوية مثل صلصة الصويا والساكي. وقد لوحظت قيم أعلى تصل إلى ١٣٣٩٨ كجم/ كجم خلال التسميد. وتصل ذروة معدلات توليد الحرارة في عمليات الكوجي إلى أكثر من ٧١-١٥٩ كجم/ كجم في الساعة، ولكن متوسط المعدلات يكون أكثر اعتدالاً من ٢٥-٦٧ كجم/ كجم في الساعة. وسوف تناقش وسائل التحكم في التخميرات الصلبة في أماكن أخرى [١].

(٣,٧) حركية التخمير Fermentation Kinetcis

(٣,٧,١) التخمرات أحادية الدفعة Batch Fermentation

خلال طور النمو المتسارع في مخمر أحادي الدفعة جيد الخلط، يزداد تركيز الكتلة الحيوية مع الوقت على النحو التالي:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \qquad (٣,٢)$$

حيث X هو تركيز الكتلة الحيوية عند الوقت t و μ هو معامل معدل النمو، أو معدل النمو النوعي. ويمكن حساب تركيز الكتلة الحيوية في أي وقت من خلال تكامل المعادلة (٣,٢)؛ وبالتالي،

$$\int_{X_o}^{X} \frac{dX}{X} = \mu \int_{0}^{t} dt \qquad (٣,٣)$$

أو

$$\ln \frac{X}{X_o} = \mu t \qquad (٣,٤)$$

وحيث يكون X_o هو تركيز الكتلة الحيوية في بداية النمو المتسارع. يمكن تحديد معدل النمو النوعي كمنحدر لرسم بياني للجانب الأيسر من المعادلة (٣,٤) ضد الزمن. وفي النمو المتسارع، يمكن تقدير الوقت اللازم لمضاعفة الكتلة الحيوية باستخدام المعادلة (٣,١). ويمكن بسهولة إجراء زراعات الدفعة الواحدة في بيئة معقمة، ولكنه لا تستطيع الحفاظ على معدل نمو مرتفع لفترة طويلة؛ بسبب استنفاذ المغذيات وتراكم النفايات المنتجة.

(٣,٧,٢) الزراعات المستمرة Continuous Culture

يمكن إجراء الزراعات المستمرة في مخمر جيد الخلط أو مخمر التدفق المسدود. وتتم التغذية والحصاد في الزراعات المستمرة بشكلٍ متصل. ويبقى حجم البيئة في المخمر ثابتاً حيث تتطابق معدلات التغذية والحصاد. ويتم المحافظة على بيئة المزرعة في حالة ثابتة. وهذا يسمح بمعدل عالٍ وثابت للإنتاج لفترات طويلة.

في مزرعة مستمرة جيدة الخلط ذات حجم V_L، ويتم تغذيتها بمعدل تدفق حجمي ثابت Q بمحلول مغذٍ ثابت التركيب، يكون توازن الكتلة الحيوية على تخمير كما يلي:

$$\underbrace{V_L \frac{dX}{dt}}_{\text{Change in total amount of biomass in reactor}} = \underbrace{QX_o}_{\text{Inflow of biomass}} - \underbrace{QX}_{\text{Outflow of biomass}} + \underbrace{V_L \mu X}_{\text{Increase in biomass by growth}} \qquad (٣,٥)$$

الزيادة في الكتلة الحيوية عن طريق النمو	التدفق الخارج من الكتلة الحيوية	التدفق الداخل من الكتلة الحيوية	تغير اجمالي الكتلة الحيوية في المفاعل

في المعادلة (٣,٥) يكون X_o هو تركيز الكتلة الحيوية في المحلول المغذي، μ هو معدل النمو النوعي و X هو تركيز الكتلة الحيوية في المخمر جيد الخلط. وعادةً لا يحتوي المحلول المغذي على كتلة حيوية، أي أن، X_o تكون صفر، إلا في البداية. يمكن ترتيب المعادلة (٣,٥) إلى ما يلي:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{Q}{V_L}(X_o - X) + \mu X \qquad (٣,٦)$$

وعند حالة الثبات، لا يتغير تركيز الكتلة الحيوية في المخمر، أي أن،

$$\frac{dX}{dt} = 0 \qquad (٣,٧)$$

وتصبح المعادلة (٣,٦)

$$\frac{Q}{V_L}(X_o - X) = -\mu X \qquad (٣,٨)$$

وتعرف نسبة معدل تدفق المحلول المغذي إلى حجم البيئة V_L في المخمر بمعدل التخفيف، D. وعندما تكون X_o = صفر، الحالة المعتادة، فإن المعادلة (٣,٨) يمكن تبسيطها إلى:

$$D = \mu \qquad (٣,٩)$$

وعليه، في أي مزرعة مستمرة جيدة الخلط تعمل في حالة ثبات بتركيز كتلة حيوية محدود في المخمر، فإن معدل التخفيف يساوي بالضرورة معدل النمو. وإذا تجاوز معدل التخفيف معدل النمو النوعي الأقصى للكائن الدقيق، سوف يتم غسل الكائن الدقيق خارج المخمر، أي أنه، لا يمكن نمو الكتلة الحيوية عند عملية الثبات.

في مخمر التدفق المسدود، طالما أن الظروف تتيح بقاء معدل النمو النوعي ثابتاً، فإن تركيز الكتلة الحيوية عند الخروج من المخمر X_e يعتمد على تخفيف معدل التخفيف D، على النحو التالي:

$$X_e = X_o \exp\left(\frac{\mu}{D}\right) \qquad (٣,١٠)$$

حيث تكون X_o تركيز الكتلة الحيوية في مدخل المخمر، μ هو معدل النمو النوعي و D هو معدل التخفيف. ومن الواضح أن مخمر التدفق المسدود يحتاج إلى التلقيح المستمر (أي أن: X_o > صفر)، وإلا فلن يكون هناك إنتاج للكتلة الحيوية.

(٣,٨) معدات التخمير Fermentation Equipment

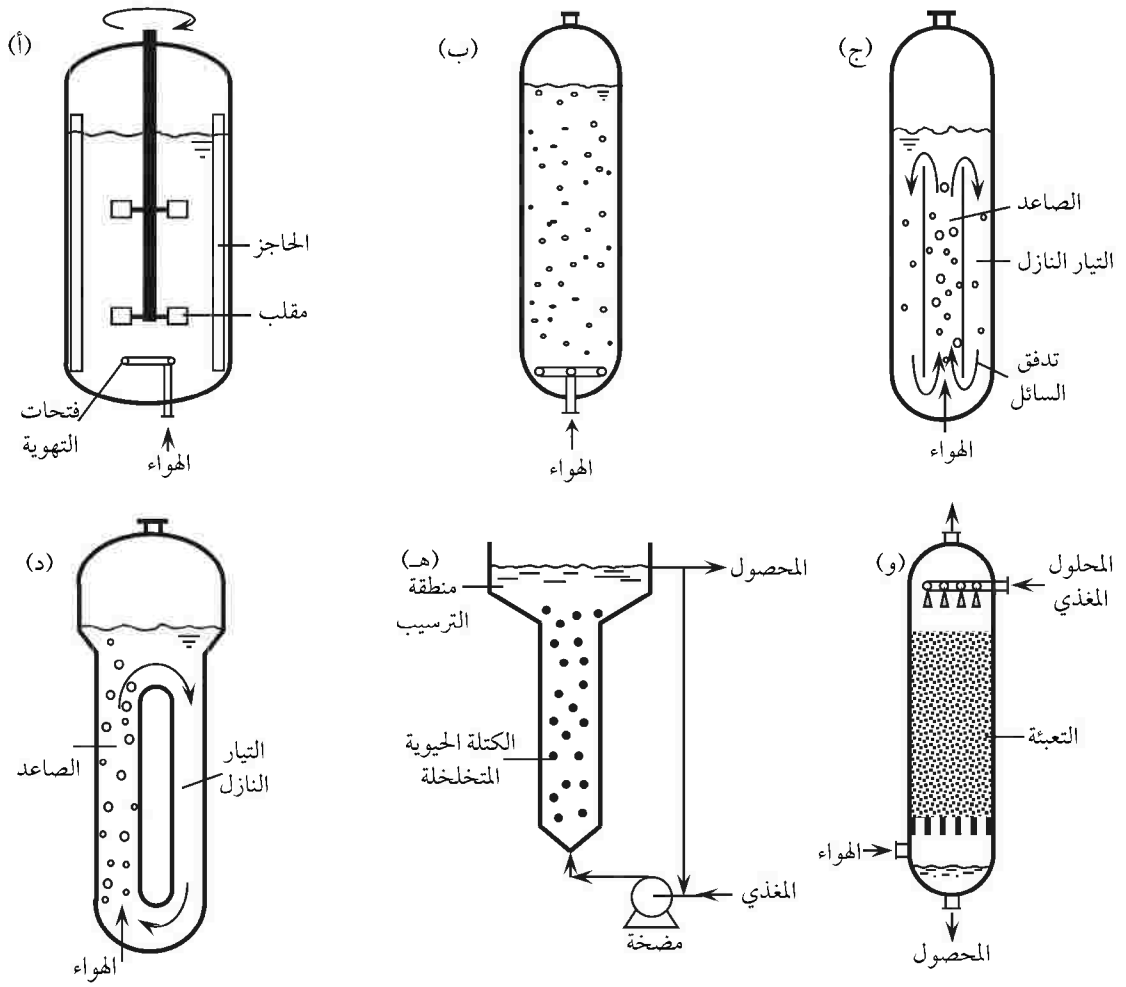
(٣,٨,١) التخمير المغمور Submerged Fermentation

يتم تصميم معدات التخمير المغمور بصفة عامة للمزارع أحادية السلالة، ويمكن أن يتم تعقيمها بالبخار تحت ضغط [٣، ٤]. والأنواع الرئيسة للتخمير المغمور مخمر خزان التقليب (Stirred Tank fermenter)، مخمر عمود الفقاعات (Bubble column)، مخمر الهواء المرفوع (Airlift fermenter)، مخمر الوسادة المعلقة (Fluidized-bed fermenter)، ومخمر الوسادة المتغلغلة (Trickle-bed fermenter)، (الشكل رقم ٥ ,٣). وفيما يلي مناقشة هذه الأنواع:

(٣,٨,١,١) مخمر خزان التقليب Stirred Tank Fermenter

يعدُّ مخمر خزان التقليب [٣] واحد من أكثر الأنواع استخداماً بسبب مرونته. وهو يتألف من وعاء أسطواني بنسبة عمل من الطول إلى القطر (نسبة جانبية) ٣-٤، مع عمود مركزي والذي يدعم ٣-٤ من قلابات، والتي توضع متباعدة بمقدار قطر واحد للقلاب (الشكل رقم ٥ ,٣ أ). ويمكن استخدام أنواع مختلفة من القلابات التي توجه اتجاه محورياً (موازياً للعمود المركزي) أو شعاعياً (الخارج من العمود المركزي). وفي بعض

الأحيان يتم استخدام القلابات المحورية والشعاعية على نفس العمود. ويتم تزويد الوعاء بأربعة صدادات عمودية موزعة بالتساوي، وتمتد من قرب الجدران إلى الوعاء. وعادةً ما يكون عرض الصداد ٨-١٠٪ من قطر الوعاء.



الشكل رقم (٥ ,٣). مخمرات التخمير المغمور. (أ) مخمر خزان التقليب؛ (ب) مخمر عمود الفقاعات؛ (ج) مخمر الهواء المرفوع ذو الدائرة الداخلية؛ (د) مخمر الهواء المرفوع ذو الدائرة الخارجية؛ (هـ) مخمر الوسادة المعلقة؛ (و) مخمر الوسادة المتغلغلة.

(٢ ,١ ,٨ ,٣) عمود الفقاعات Bubble Column

يتكون من وعاء أسطواني ذي نسبة عمل جانبية ٤-٦ (الشكل رقم ٥ ,٣ ب). ويتم ضخ الهواء فيه من الأسفل، ويقوم الغاز المضغوط بالتقليب. ورغم أنه بسيط، إلا أنه لا يستخدم على نطاقٍ واسع؛ بسبب ضعف

الأداء النسبي مقارنة بالأنظمة الأخرى [٢، ٣]. وهو ليس مناسباً للمحاليل الشديدة اللزوجة أو التي تحتوي على كميات كبيرة من المواد الصلبة [٢، ٣].

(٣,٨,١,٣) مخمر الهواء المرفوع Airlift Fermenter

قد يأتي تصميم هذه المخمرات على هيئة حلقة داخلية (الشكل رقم ٣,٥ ج) أو خارجية (الشكل رقم ٣,٥ د) [٢، ٣]. في التصميم داخلي الحلقة يكون الصاعد الهوائي والهابط اللاهوائي في القشرة نفسها. في التصميم خارجي الحلقة يكون الصاعد الهوائي والهابط اللاهوائي أنابيب منفصلة، والتي تكون مرتبطة بالقرب من القمة والقاع. ويدور السائل بين الصاعد (التدفق لأعلى) والهابط (التدفق لأسفل) وتكون ونسبة العمل الجانبية في هذا المخمر ستة أو أكثر. وبشكل عام، فهذه مخمرات عالية القدرة جداً، باستثناء التعامل مع المحاليل شديدة اللزوجة. وقدرتها على تعليق المواد الصلبة، ونقل الأوكسجين والحرارة جيدة. ويكون الإجهاد الهيدروديناميكي منخفض. ويكون استخدام التصميم خارجي الحلقة في الصناعة عادةً قليلاً.

(٣,٨,١,٤) مخمر الوسادة المعلقة Fluidized Bed Fermenter

تشبه هذه المخمرات أعمدة الفقاعات مع مقطع عرضي موسع بالقرب من القمة (الشكل رقم ٣,٥ هـ). ويتم ضخ السائل الطازجة أو المعاد استخدامه باستمرار إلى قاع الوعاء بسرعة كافية لتعليق المواد الصلبة أو المحافظة عليها في معلق. وتحتاج مخمرات القاع المعلق إلى مضخة خارجية. والقسم العلوي الموسع يبطئ السرعة الموضعية في التدفق الصاعد بحيث لا يتم غسل من المواد الصلبة خارج المفاعل الحيوي.

(٣,٨,١,٥) مخمر الوسادة المتغلغلة Trickle-Bed Fermenter

تتكون هذه المخمرات من وعاء أسطواني معبأ بمادة داعمة (على سبيل المثال، نشارة الخشب، الصخور، والهياكل البلاستيكية) (الشكل رقم ٣,٥ و). وتحتوي الدعامة على مسافات كبيرة مفتوحة لتدفق السائل والغاز. وتنمو الكائنات الدقيقة مرتبطة بالدعامة الصلبة. ويتم يتم رش محلول المواد الغذائية السائل من الأعلى والذي يتغلغل خلال الوسادة لأسفل. ويمكن ضخ الهواء لأعلى الوسادة، في اتجاه معاكس لاتجاه السائل. وتستخدم هذه المخمرات في إنتاج الخل، فضلاً عن عملياتٍ أخرى. وهي مناسبة للسوائل ذات اللزوجة المنخفضة وبعض المواد الصلبة العالقة [٢].

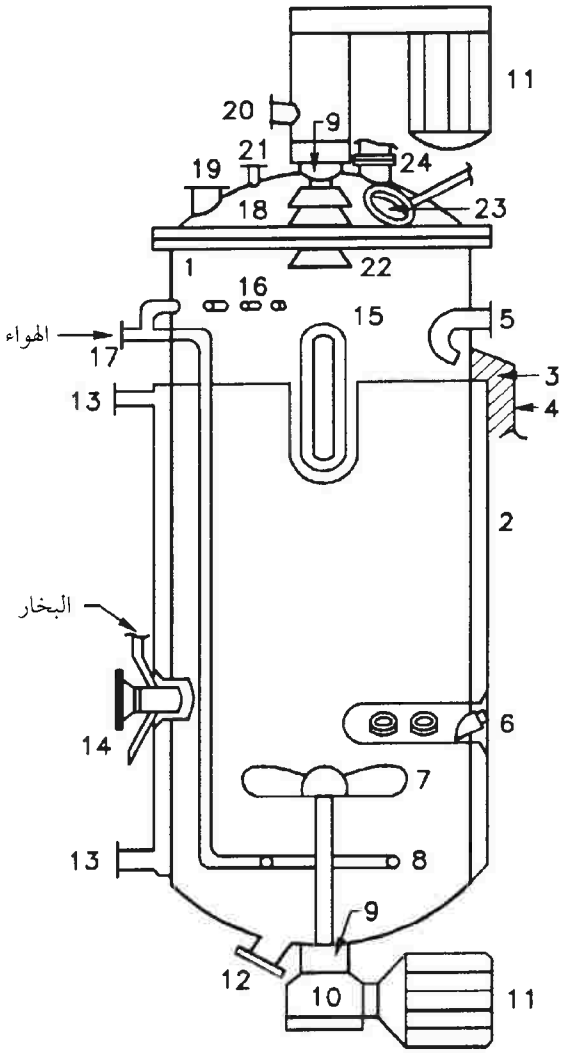
وتشترك جميع المخمرات أو المفاعلات الحيوية للزراعات المغمورة أحادية السلالة في الكثير من السمات، كما هو مبين في الشكل رقم (٣,٦) [٧]. يتم توفير وعاء التخمير بمنافذ جانبية لحساسات درجة الأس الهيدروجيني،

درجة الحرارة، والأوكسجين المذاب. وعادةً ما تستخدم الحساسات القابلة للسحب والتي يمكن استبدالها خلال العملية. وتقع وصلات للحامض والقلوي (للتحكم في درجة الأس الهيدروجيني)، العوامل المضادة للرغوة، واللاقح فوق مستوى البيئة في وعاء المفاعل. ويمكن بسهولة رؤية مستوى السائل من خلال زجاج رؤية لعمودي موجود على جانب الوعاء (الشكل رقم ٦ ,٣). ويقع زجاج رؤية ثانٍ في الجزء العلوي من الوعاء، ويمكن استخدام ضوء خارجي للإضاءة داخل المفاعل الحيوي. ويمكن تنظيف زجاج الرؤية الثاني العلوي داخلياً بواسطة تيار قوي من البخار المتكثف. وقد يوضع الوعاء على خلية تحميل للحصول على مؤشر دقيق لكمية المواد التي يحتوي عليها.

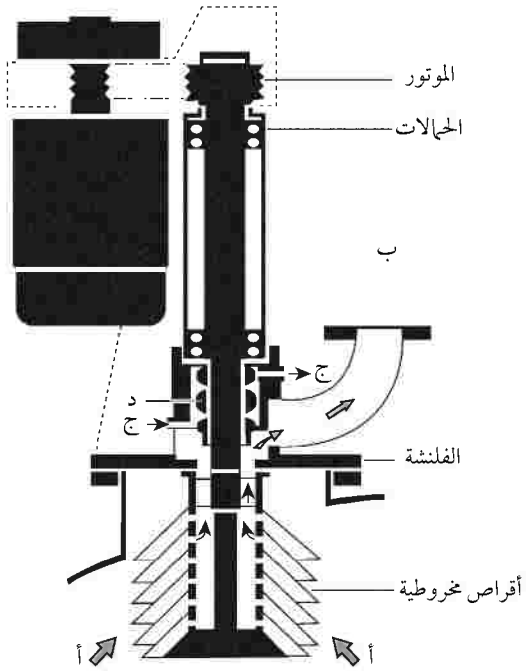
عندما يتم استخدام التقليب الميكانيكي، يمكن استعمال إما مقلب علوي وإما سفلي المدخل. والتصميم ذو المدخل السفلي هو الأكثر شيوعاً ويسمح باستخدام عمود تقليب أقصر، مما يقضي في كثيرٍ من الأحيان على الحاجة إلى دعامات داخل الوعاء. ويتم تزويد عمود المقلب بسدادات ميكانيكية مفردة أو مزدوجة قابلة للتعقيم بالبخار [٧]. وتمنع السدادات التسرب من وعاء التخمير ودخول الملوثات المحتملة من البيئة. ويفضل استخدام السدادات المزدوجة، ولكنها تتطلب التشحيم مع بخار متكثف نظيف مبرد، أو غيرها من السوائل المعقمة. وبدلا من ذلك، وعندما تسمح قيود عزم الدوران، يمكن استخدام مقلبات مقترنة مغناطيسياً ومن ثم القضاء على السدادات الميكانيكية [٧].

ويوفر ضاخ الهواء (أو غيره من خليط الغاز) إمدادات الأوكسجين (وأحياناً ثاني أكسيد الكربون أو الأمونيا للتحكم في درجة الأس الهيدروجيني) إلى البيئة. وينتج عن تهوية بيئة التخمير رغوة. عادةً، يجب ترك ٢٠-٣٠٪ من حجم المخمر فارغاً لاستيعاب الرغوة والسماح بانسحاب الغاز [٧]. ويتم التحكم في الرغوة في المفاعلات الحيوية عن طريق مزيج من الطرق الكيميائية والميكانيكية. ويتم عادة خلط عوامل كيميائية مضادة للرغوة مع البيئة في بدء التخمير. ويتم إجراء المزيد من الإضافات للعامل المضاد للرغوة من وقتٍ لآخر، كلما دعت الحاجة. ومضادات الرغوة النموذجية هي زيوت السيليكون، الزيوت النباتية، والمواد المعتمدة على بولي (البروبيلين جليكول) أو بولي (الإثيلين جليكول) المنخفض الوزن الجزيئي. وتعدُّ مضادات الرغوة المستحلبة أكثر فعالية؛ لأنها تنتشر بصورة أفضل في المخمر. يمكن أن يتداخل الاستخدام المفرط لمضادات الرغوة مع بعض عمليات الفصل في المصب كما في الترشيح الغشائي. ومضادات الرغوة من السيليكون الكاره للماء تكون مزعجة بشكلٍ خاص؛ لأنها تفسد المرشحات الغشائية وبيئات الفصل اللوني [٣]. ويتم تقليل الاعتماد على مضادات الرغوة الكيميائية من خلال الجمع بينها مع الكسر الميكانيكي للرغوة. ويمكن تركيب "كسار رغوة" ميكانيكي في فراغ الرأس الموجود في المخمر، كما هو مبين في الشكل رقم (٦ ,٣) [٧]. ويفصل الجهاز في الشكل رقم (٦ ,٣) الرغوة – انتشار من الغاز في السائل– إلى مكوناته من خلال العمل الطرد المركزي، كما هو موضح في الشكل رقم

(٣,٧). ويتم التحكم في تشغيل كسار الرغوة وإضافة مضادات الرغوة الكيميائية عبر إشارات من حساس للرغوة يمتد إلى داخل المفاعل الحيوي من الأعلى. ويجب أيضاً سد عمود كسارة الرغوة الميكانيكي عالي السرعة باستخدام سدادات ميكانيكية مزدوجة كما سبق الشرح في المقلب.



الشكل رقم (٣,٦). مخمر الزراعة المغمورة مثالي. (١) وعاء المفاعل؛ (٢) القميص؛ (٣) العزل؛ (٤) الغطاء الحامي؛ (٥) وصلة اللاقح؛ (٦) مداخل حساسات الرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة والأكسجين المذاب؛ (٧) المقلب؛ (٨) موزع الغاز؛ (٩) العوازل الميكانيكية؛ (١٠) علبة مقلل السرعة؛ (١١) الموتور؛ (١٢) فتحة الحصاد؛ (١٣) وصلات القميص؛ (١٤) صمام أخذ العينة مع وصلة بخار؛ (١٥) زجاج الرؤية؛ (١٦) وصلات للحمض والقاعدة والعامل المضاد للرغوة؛ (١٧) فتحة دخول الهواء؛ (١٨) غطاء قابل للنزع؛ (١٩) فتحة إضافة البيئة؛ (٢٠) فتحة خروج الهواء؛ (٢١) فتحات لحساس الرغوة ومقياس الضغط والمعدات الأخرى؛ (٢٢) كاسر الرغوة الدوار؛ (٢٣) زجاج رؤية ذو إضاءة ووصلة بخار؛ (٢٤) فتحة قرص التمزق.



الشكل رقم (٣,٧). كاسر رغوة ميكانيكي. يستخدم الموتور وتركيب الساق لإدارة مجموعة أقراص مخروطية بسرعة عالية. تدخل الرغوة في الفراغات بين الأقراص الدوارة عند (أ) وتفصل إلى غاز وسائل بقوة الطرد المركزي. يدور السائل بسرعة إلى المفاعل الحيوي ويخرج الغاز الخالي من السائل من الفتحة (ب). ويمنع العازل الميكانيكي (د) التسرب إلى ومن المفاعل الحيوي المعقم. ويتم تشحيم العازل بواسطة ماء مبرد معقم (ج).

وفي معظم الحالات، يتم تصميم المفاعل الحيوي لحد أقصى مسموح به من ضغط العمل من ٣,٧٨- ٤,١٠ بار (ضغط مطلق) عند درجة حرارة التصميم من ١٥٠-١٨٠ درجة مئوية [٧]. ويتم تصميم الوعاء ليتحمل الفراغ التام. وفي أمريكا الشمالية يتوافق التصميم مع الجمعية الأمريكية للمهندسين الميكانيكيين (ASME) الباب الثامن، تقسيم ١، رمز الغلايات وأوعية الضغط. وقد تكون رموز أخرى مقبولة في أماكن أخرى. ويمكن تعقيم المفاعل في مكانه-باستخدام بخار مشبع نظيف عند ضغط لا يقل عن ١,٢ بار (ضغط مطلق). ويتم توفير الحماية من الضغط الزائد عن طريق قرص تمزق موجود في أعلى المفاعل الحيوي. ويتصل قرص التمزق بأنابيب تصريف. وعادة يستخدم قرص انفجار غرافيتي؛ لأنه لا يتشقق أو يكون الثقوب قبل فشله تماماً. وتقع أجزاء أخرى على اللوحة الرئيسة للوعاء، وهي فتحات لإضافة البيئة والمحلول المغذي وللحساسات (على سبيل المثال، قطب الرغوة)، والمعدات (على سبيل المثال، عداد الضغط).

ويتم تصميم الوعاء ليتم تصريفه بشكلٍ تام، وتقع فتحة الحصاد في أقل مستوى من وعاء المفاعل (الشكل رقم ٦,٣). ويزود المفاعل إما بصنبور وإما يكون الجزء العلوي قابل للإزالة. ويشيع استخدام لوحات رئيسة

مسطحة في الأوعية الصغيرة، ولكن يكون التركيب المقبب للقمة أقل تكلفة في المفاعلات الحيوية الأكبر (الشكل رقم ٦ , ٣) [٧].

وينبغي أن يحتوي وعاء المفاعل الحيوي على بعض التصاميم الداخلية؛ ينبغي أن يأخذ التصميم في الاعتبار احتياجات التنظيف-في-المكان [٧-٩] والتعقيم-في-المكان. يجب أن يكون هناك حد أدنى لعدد المنافذ، الفتحات، التوصيلات، والمرفقات الأخرى التي تتسق مع الاحتياجات الحالية والمستقبلية المتوقعة للعملية. يجب أن يكون المفاعل الحيوي خالياً من الشقوق والمناطق الراكدة، حيث قد تتراكم جيوب من السوائل والمواد الصلبة. ومن المهم أيضاً الاهتمام بتصميم هذه البنود التي تبدو غير مهمة مثل أخاديد الطوق [٧]. ويفضل استخدام قنوات سهلة نظيفة ذات حواف دائرية . وبقدر الإمكان، يجب استخدام المفاصل الملحومة لتفضيل التوصيلات الصحية. وينبغي أن تسمح توصيلات البخار بالنزوح الكامل لجميع جيوب الهواء في الوعاء والأنابيب المرتبطة بها، من أجل التعقيم. حتى من الخارج ينبغي أن يصمم موقع العمليات الحيوية بدرجة نظيفة، حواف ناعمة، الحد الأدنى من المواضع العارية، وهكذا دواليك.

يتم تغليف وعاء المفاعل بشكل ثابت. في غياب المتطلبات الخاصة، يتم تصميم الغلاف بنفس مواصفات الوعاء [٧]. ويتم تغطية الغلاف بطبقة عازلة من ألياف الزجاج الخالية من الكلور، والتي تكون مغلفة بالكامل داخل غطاء للحماية كما هو مبين في الشكل رقم (٦ , ٣). ويتم تزويد الغلاف بحماية ضد الضغط الزائد من خلال صمام الإغاثة الموجود على الغلاف أو الأنابيب المرتبطة به [٧].

بالنسبة للغالبية العظمى من التطبيقات، يفضل استخدام الفولاذ الأوستنيتي المقاوم للصدأ كمواد بناء المفاعلات الحيوية [٧]. وعادة ما يصنع وعاء المفاعل الحيوي من الفولاذ المقاوم للصدأ من نوع ٣١٦ل، في حين يتم استخدام الأنواع نوع الأقل تكلفة ٣٠٤ (أو ٣٠٤ل) للغلاف، طبقة العزل، وغيرها من الأسطح غير المتصلة بالمنتج. وتحتوي درجات الفولاذ المقاوم للصدأ من الدرجة ل على أقل من ٠٣ , ٠٪ من الكربون، مما يقلل من تكوين كربيد الكروم خلال عملية اللحام ويقلل من احتمالات التآكل الحبيبي الداخلي في اللحامات [٧]. وينبغي أن تكون لحامات الأجزاء الداخلية أن تكون مع متساوية مع السطح الداخلي ومصقولة. ويصعب ملاحظة اللحامات في التركيبات عالية الجودة.

بالإضافة إلى مواد البناء، يتطلب إنهاء الأسطح الداخلية (اللمسات الأخيرة) أيضاً الاهتمام. يؤثر إنهاء الأسطح التي بالمواد المنتجة، وإلى حدٍ ما، إنهاء الأسطح الخارجية على القدرة على التنظيف، تطهير وتعقيم المفاعل الحيوي، ومنطقة التجهيز العامة [٧]. ويؤثر إنهاء الأسطح في استقرار وتفاعل السطح، وقد يكون له آثار عملية متصلة بالتصاق الخلايا الميكروبية أو الحيوانية على الأسطح.

يعد إنهاء رقاقات أسطح الفولاذ المقاوم للصدأ بالطحن غير مرضي للاستخدام في المفاعلات الحيوية [٧]. فعلى الأقل، ينبغي أن يحصل السطح على صقل ميكانيكي. ويتحقق الصقل الميكانيكي من خلال عمل جلخ من مادة مصنفرة على معدن. ويمكن أن يتم تحديد إنهاء السطح برقم الحبيبات (Grit number)، فعلى سبيل المثال، صقل الحبيبات ٢٤٠، والذي يشير إلى كمية الجسيمات في البوصة المربعة على لوحة التجليخ [٧]. وكلما ارتفع عدد الحبيبات كان الإنهاء ناعماً. وتعتمد مزيد من التدابير الكمية لإنهاء الأسطح على القياس المباشر للخشونة من حيث "متوسط الخشونة الحسابي، Ra"، أو "الجذر التربيعي لمتوسط الخشونة". ويكشف الفحص المجهري حتى لسطحٍ ناعم للغاية مصقول ميكانيكياً عن نمط نموذجي للأخاديد والتلال التي توفر مواقع للارتباط الميكروبي. على سبيل المثال، فإن سطح مصقول بدرجة تلميع حبيبات ٣٢٠ سوف يكون له Ra في الرتبة من ٠,٢٣–٠,٣٠ ميكرومتر. ومن ثمَّ، للأسطح الداخلية للمفاعلات الحيوية، يفضل صقل الأسطح كهربائياً عن الصقل الميكانيكي وحده [٧].

ينتج من الصقل الكهربائي، والذي هو عملية تحليل كهربائية تزيل بشكلٍ مفضل نتوءات السطح المجهرية الحادة الناشئة عن التلميع الميكانيكي، إنهاء أكثر نعومةً [٧]. ويقلل الصقل الكهربائي بدرجةٍ كبيرة مساحة سطح المعدن، ومن ثمَّ، مساحة الاتصال بين المنتج والمعدن. وتضفي المعالجة مقاومة الفولاذ المقاوم للصدأ للتآكل؛ وذلك بإزالة المناطق المجهرية ذات الإجهاد المحلي العالي؛ وتخلق تخميل سطح الصلب، غني بأكسيد الكروم الواقي [٧]. ولتحقيق إنهاء سطح مصقول كهربائياً مناسباً، يجب أن يكون السطح قد سبق صقله ميكانيكياً، ولكن هناك القليل من المزايا للبدء بسطح مصقول بدرجة صقل حبيبات أفضل بكثير من ٢٢٠ (Ra = ٠,٤–٠,٥ ميكرومتر).

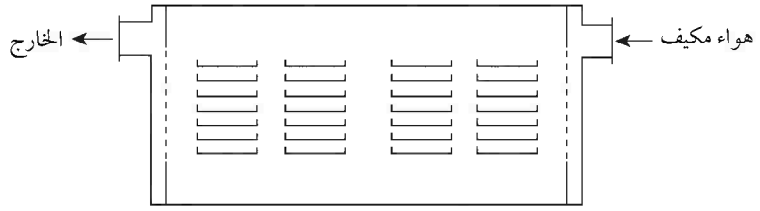
وإذا توجب استخدام الصقل الميكانيكي فقط، ينبغي أن يكون بدرجة لا تقل عن صقل حبيبات ٢٤٠، وينبغي التحكم في اتجاه الصقل لإنتاج تجزع رأسي من أجل صرف أفضل [٧]. وينبغي أن يحصل السطح كحدٍ أدنى على معالجة بغسيل حمض النيتريك. ويبدو أن اتجاه التجزع يكون غير مهماً إذا كان السطح سوف يتم صقله كهربائياً.

(٢,٨,٣) التخمير الصلب Solid-State Fermentation

تتراوح أجهزة التخمير الصلب [٢،١] في التطور التقني من لفائف ورق الموز البدائية جداً، سلال الخيزران، وأكوام الوسط إلى الآلات المؤتمتة للغاية خاصةً في اليابان، وبعض أنظمة التخمير "الأقل تعقيداً"، على سبيل المثال، تخمير حبوب الكاكاو في الأكوام، ذات فعالية لا بأس بها في المعالجة على نطاق واسع. في المقابل، فإن بعض تخميرات صلصة الصويا المستمرة عالية الميكنة، والتي أثبتت نجاحها في اليابان لا تناسب مع المواقع الأقل تقدماً في آسيا. وتظهر الأشكال (٨,٣–١٣,٣) بعض التخميرات الصلبة شائعة الاستخدام. وفيما يلي مناقشة هذه الأنواع:

(١ , ٢ , ٨ , ٣) المخمر ذو الأدراج Tray Fermenter

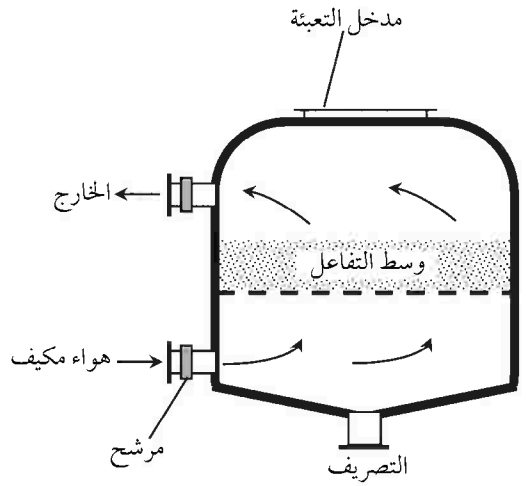
وهي مخمرات بسيطة وتستخدم على نطاقٍ واسع في عمليات الكوجي الصغيرة والمتوسطة المستوى في آسيا [١، ٢]. يتم صناعة أدراج من الخشب، المعدن، أو البلاستيك، وكثيراً ما تكون مثقوبة أو تيم تمديد شبكة أسلاك في الأسفل لتحسين التهوية. ويتم تخمير الوسط البيئي في طبقات ضحلة (عمق ≤ ١٥ , ٠ م). وقد تكون الأدراج مغطاة بقطعة من قماش الجبن للحد من التلوث. وتكون العملية غير معقمة. ويمكن أن يوجد درج مفرد أو أدراج مرصوصة أو مكدسة في غرف يتم التحكم في درجة الحرارة والرطوبة بها (الشكل رقم ٨ , ٣)، أو ببساطة في مناطق جيدة التهوية [١، ٢]. ويتم التلقيح وأحياناً الخلط يدوياً. وفي بعض الأحيان، يتم التعامل مع الأدراج، التعبئة، التفريغ، والغسيل بطريقة أوتوماتيكية. وعلى الرغم من بعض الأتمتة، تتطلب مخمرات الأدراج عمالة مكثفة، ومساحة كبيرة. ولدى مخمرات الأدراج قابلية محدودة لزيادة المستوى.



الشكل رقم (٨ , ٣). المخمر ذو الأدراج.

(٢ , ٢ , ٨ , ٣) المخمر الوسادة الثابتة Static Bed Fermenter

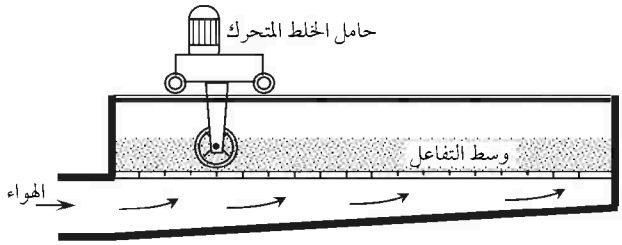
يعدُّ هذا المخمر تعديل أو تكييف لمخمر الأدراج. ويستخدم وسادة ثابتة واحدة، أكبر وأعمق، تقع في غرفة معزولة (الشكل رقم ٩ , ٣) [١، ٢]. ويتم توفير الأوكسجين بواسطة التهوية القسرية خلال وسادة الوسط.



الشكل رقم (٩ , ٣). مخمر الوسادة الثابتة.

(٣,٨,٢,٣) المخمر ذو النفق Tunnel Fermenter

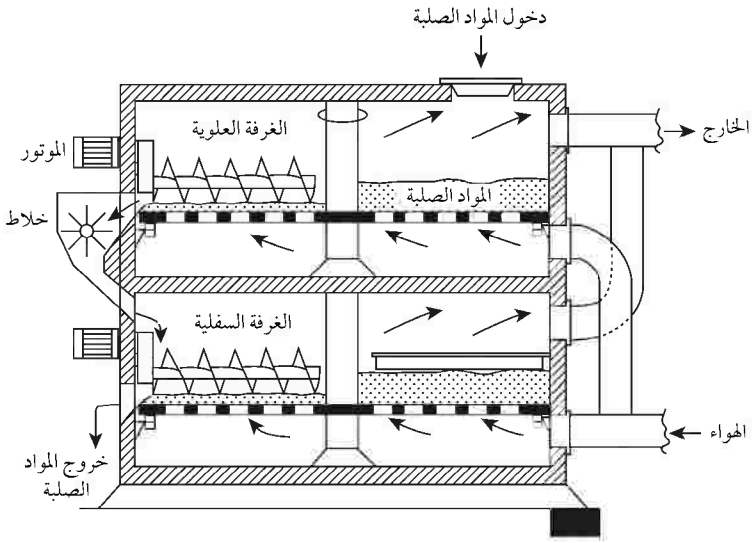
يعدُّ هذا المخمر تعديل لمخمر الوسادة الثابتة. عادةً، تكون وسادة المواد الصلبة طويلة، ولكن ليست أكثر عمقاً من ٠,٥ متر (الشكل رقم ٣,١٠) [١، ٢]. وقد تكون مخمرات الأنفاق عالية الأتمتة مع آليات للتلقيح، الخلط، التغذية المستمرة، وحصاد الوسط [١، ٢].



الشكل رقم (٣,١٠). المخمر ذو النفق.

(٣,٨,٢,٤) مخمر القرص الدوار Rotary Disk Fermenter

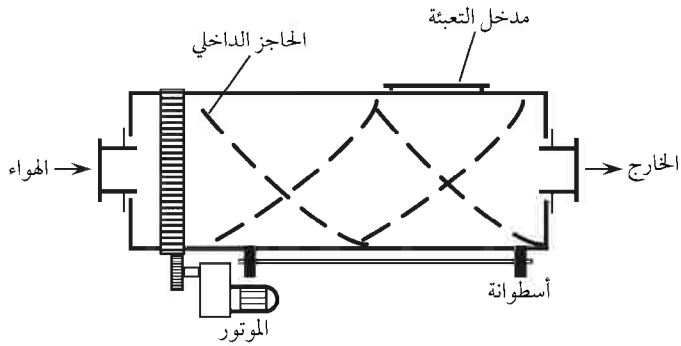
يتكون مخمر القرص الدوار [١، ٢] من غرفتين علوية وسفلية، كلٍ منها مزود بقرص دائري مثقب لتدعيم وسادة الوسط (الشكل رقم ٣,١١). ويقوم عمود مركزي عام بتدوير الأقراص. ويتم إدخال الوسط بعد تلقيحه في الغرفة العلوية، ويتحرك ببطء عبر اللولب الناقل. وينقل اللولب العلوي المواد الصلبة المخمرة جزئياً خلال خلاط، إلى الغرفة السفلية حيث يستمر التخمير. ويتم حصاد الوسط المخمر باستخدام اللولب الناقل السفلي. ويتم تهوية كلا الغرفتين بهواء رطب وذو درجة حرارة معينة، تستخدم مخمرات الأقراص الدوارة في صناعة الكوجي على النطاق الواسع في اليابان.



الشكل رقم (٣,١١). مخمر القرص الدوار.

(٣,٨,٢,٥) مخمر البرميل الدوار Drum Rotary Fermenter

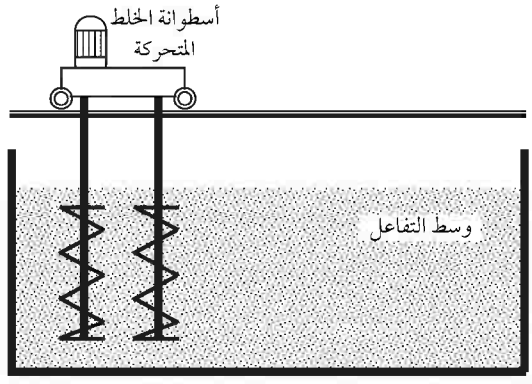
يتم تدعيم البرميل الأسطواني لمخمر البرميل الدوار [١، ٢] على بكرات، ويتم تدويره (١-٥ لفة في الدقيقة) حول المحور الطويل (الشكل رقم ١٢, ٣). وقد يكون الدوران على فترات متقطعة، ويمكن أن تختلف السرعة مع مرحلة التخمير. وتساعد صدادات مستقيمة أو منحنية داخل البرميل في تراجع الوسط، ومن ثمَّ تحسين التهوية والتحكم في درجة الحرارة. وفي بعض الأحيان يكون البرميل مائلاً، مما يسبب انتقال الوسط من مدخل الطرف العلوي إلى مخرج الطرف السفلي أثناء الدوران. وتتم التهوية من خلال مدخل محوري وفتحات العادم.



الشكل رقم (١٢, ٣). مخمر البروميل الدوار.

(٣,٨,٢,٦) مخمر الخزان المقلب Agitated Tank Fermenter

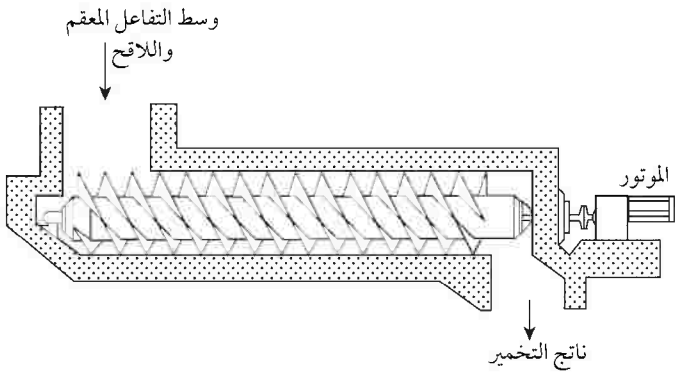
يتم تركيب إما واحد وإما أكثر من القلابات اللولبية في خزانات أسطوانية أو مستطيلة لتقليب وسط التخمير (الشكل رقم ١٣, ٣). أحياناً، تمتد اللوالب إلى خزانات من عربات متحركة والتي تقع على قضبان أفقية فوق الخزانات. وتصميم آخر للخزان المقلب هو مخمر المجداف. ويشبه هذا جهاز البرميل الدوار، إلا أن البرميل يكون ثابتاً، ويتم توفير الخلط الدوري بواسطة مجاديف معتمدة على محرك ومدعمة على عمود مركزي [١، ٢].



الشكل رقم (١٣, ٣). مخمر الخزان المقلب.

(٣,٨,٢,٧) مخمر اللولب المستمر Continuous Screw Fermenter

يتم التغذية بالوسط المعقم المبرد، والذي تم تلقيحه في مدخل الغرفة غير المهواة (الشكل رقم ١٤,٣). ويتم نقل المواد الصلبة المتخمرة في اتجاه منفذ من خلال اللولب (الشكل رقم ١٤,٣). وتتحكم السرعة الدورانية وطول اللولب في وقت التخمير. وتناسب مخمرات اللولب المستمر التخميرات اللاهوائية المستمرة أو التخميرات المفضلة لكميات دقيقة (ضئيلة جداً) من الهواء [١، ٢].



الشكل رقم (١٤,٣). مخمر اللولب المستمر.

وعلى عكس الزارعات المغمورة، لا يؤخذ تصميم أوعية الضغط معياراً في المخمرات الصلبة. ويمكن أن يتم تبطين غرف كبيرة من الخرسانة أو الطوب، غرف الكوجي، مع الصلب، وعادةً الفولاذ المقاوم للصدأ من نوع ٣٠٤. ومع ذلك، تستخدم أيضاً الأنواع الأكثر مقاومة للتآكل من الفولاذ المقاوم للصدأ من نوع ٣٠٤ ل و ٣١٦ ل.

(٣,٩) استعادة منتجات التخمير Recovery of Fermentation Products

يحتاج المحلول الناتج من التخمير مزيد من المعالجة النهائية من أجل استرداد المنتج المطلوب في حالة نقية مناسبة. وتتكون المعالجة النهائية عادةً من سلسلة من الخطوات التي تقدم في نهاية المطاف المنتج على المطلوب المستوى من النقاء. وسوف يتم مناقشة عمليات التجهيز النهائية ببعض التفصيل في الفصل الثامن. ويقتصر هذا النقاش على العوامل التي يجب النظر فيها عند تطوير برامج تنقية وتركيز لأي منتج هام اقتصادياً، اعتماداً على الاختيار الصغير من عمليات التجهيز الكثيرة المتاحة [١٠]. وغالباً ما يساهم استرداد المنتج وتنقيته بحوالي ٧٠-٨٠٪ من التكلفة النهائية لإنتاج منتجٍ ما [١٠]؛ وعليه، يجب الاهتمام بتصميم استرداد نهائية اقتصادية. وتعدُّ تنقية المنتج لمستوى أكثر من المستوى المطلوب في تطبيقٍ معين هو إسراف ومكلف. ويجب تحديد مواصفات نقاوة واقعية والتي تتفق مع الاستخدام المقصود، وكذلك التقيد بها في عمليات المعالجة النهائية.

ويجب تحقيق درجة النقاوة والتركيز المطلوبين، إلى أقصى حدٍ ممكن، بأقل عدد من خطوات التجهيز؛ عادة، يستخدم ما لا يزيد عن ٦-٧ خطوات تجهيز في استرداد منتجات التخميرات الصناعية [١٠]. ويقلل استخدام الحد الأدنى من خطوات المعالجة من مصاريف رأس المال ونفقات التشغيل. وعلاوة على ذلك، فإن استخدام عدد كبير من خطوات التجهيز يقلل من العائد الإجمالي للعملية. وذلك لأن العائد الإجمالي لعملية من عدد n- من الخطوات بعائد للخطوة x٪ يكون فقط $(x/100)^n$. على سبيل المثال، فإن قطار تجهيز من خمس خطوات فقط، كلٍ منها بعائد ٩٠٪، قد يخفض الاسترداد الإجمالي لأقل من ٦٠٪ [١١]. ويقلل استخدام الفصل عالي الجودة مثل الفصل اللوني مبكراً في عملية الاسترداد من فقدان العائد.

وينبغي بذل محاولات لتركيز الجزء المحتوي على المنتج من المحلول في أقرب وقت ممكن خلال عملية التجهيز النهائي [١٠]. وذلك يقلل من حجم وتكلفة المعدات المطلوبة لخطوات التجهيز اللاحقة. ويمكن أن تكون محاليل التخمير لزجة جداً، وعليه، من الصعب ضخها، خلطها وترشيحها. ويسهل تقليل لزوجة المحلول كثيراً من التجهيز، على سبيل المثال، عن طريق هضم أي بوليمرات غير مرغوب فيها وإزالة أي مواد صلبة معلقة لا حاجة لها. وينبغي أن تصمم عملية التجهيز النهائي بحيث تزيد من سرعة التجهيز [١٠]. فالتجهيز السريع يقلل من المصاريف المرتبطة مع مرور الوقت ويقلل من فقدان المنتج المرتبط بالتعرض إلى ظروف المعالجة السلبية لفتراتٍ طويلة في كثيرٍ من الأحيان.

وتعتمد عمليات الاسترداد والفصل على اختلافات الخصائص المادية والكيميائية لمكونات الخليط، للفصل بينهما. على سبيل المثال، يعتمد استرداد الخلايا من المحلول بالترشيح على الفرق بين حجم الخلايا وحجم جزيئات السائل؛ وذلك لتحقيق الفصل. عموماً، يتم تحقيق أفضل نتائج الفصل الكلي إذا اعتمدت الخطوات الفردية التي تستخدم في عملية التجهيز النهائي على أكبر عدد ممكن من الاختلافات في الخصائص المادية والكيميائية لتحقيق الفصل [١٠]. كمثال لذلك، عند استخدام خطوتين متعاقبتين من الفصل اللوني، ترشيح الهلام الذي يفصل بناءً على الحجم الجزيئي، والفصل اللوني التبادلي للأيونات الذي يفصل على أساس الاختلاف في شحنة الجزيئات، فإن استخدام تركيبة منهما قد يكون متفوقاً مقارنةً باستخدام مرحلتين من الفصل اللوني الأيوني التبادلي.

(١٠, ٣) ملاحظات ختامية Concluding Remarks

قدم هذا الفصل لمحة عامة عن تقنية التخمير المستخدمة في العمليات الصناعية. ويمكن أن تكون عملية التخمير متنوعة للغاية اعتماداً على الوسط، الكائن الحي الدقيقة، والمنتج. وتتم معظم عمليات التخمير الصناعية على دفعة واحدة أو بالتغذية على دفعات، ولكن يمكن استخدام طرق أخرى من التخمير. وتتطلب الإدارة

الناجحة لعملية التخمير الاهتمام بالتصميم والمعالجة الأولية لبيئة التخمير، وتجهيز اللاقح، والظروف البيئية اللازمة للنمو وتكوين المنتج. كما يجب الاهتمام في التخميرات أحادية السلالة بمنع التلوث الميكروبي. وعلى الرغم من أن مخمرات خزان التقليب يشيع استخدامها في التخميرات المغمورة، فإنه تتواجد أنواع كثيرة مختلفة من المخمرات. ويجب اختيار المخمر المناسب بالإشارة إلى طبيعة التخمير، وحجم العملية، والقضايا الهندسية والتشغيلية المعنية.

المراجع References

[١] Chisti, Y. (1999) Solid substrate fermentations, enzyme production, food enrichment, in *Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation,* vol. **5** (eds M.C. Flickinger and S.W. Drew), John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 2446–2462.

[٢] Chisti, Y. (1999) Fermentation (industrial): basic considerations, in *Encyclopedia of Food Microbiology* (eds R. Robinson, C. Batt, and P. Patel), Academic Press, London, pp. 663–674.

[٣] Chisti, Y. and Moo-Young, M. (1999) Fermentation technology, bioprocessing, scale-up and manufacture, in *Biotechnology: The Science and the Business,* 2nd edn (eds V. Moses, R.E. Cape, and D.G. Springham), Harwood Academic Publishers, New York, pp. 177–222.

[٤] Chisti, Y. (1992) Assure bioreactor sterility. *Chem. Eng. Prog.,* **88** (9), 80–85.

[٥] Chisti, Y. (1999) Shear sensitivity, in *Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation*, vol. **5** (eds M.C. Flickinger and S.W. Drew), John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 2379–2406.

[٦] Chisti, Y. (1998) Biosafety, in *Bioseparation and Bioprocessing: A Handbook,* vol. **2** (ed. G. Subramanian), John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 379–415.

[٧] Chisti, Y. (1992) Build better industrial bioreactors. *Chem. Eng. Prog.,* **88** (1), 55–58.

[٨] Chisti, Y. and Moo-Young, M. (1994) Clean-in-place systems for industrial bioreactors: design, validation and operation. *J. Ind. Microbiol.,* **13,** 201–207.

[٩] Chisti, Y. (1999) Modern systems of plant cleaning, in *Encyclopedia of Food Microbiology* (eds R. Robinson, C. Batt, and P. Patel), Academic Press, London, pp. 1806–1815.

[١٠] Chisti, Y. (1998) Strategies in downstream processing, in *Bioseparation and Bioprocessing: A Handbook,* vol. **2** (ed. G. Subramanian), John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 3–30.

[١١] Fish, N.M. and Lilly, M.D. (1984) The interactions between fermentation and protein recovery. *Biotechnology,* **2,** 623–627.