

## التقنية الحيوية الصناعية في الصناعات الكيميائية والدوائية

### INDUSTRIAL BIOTECHNOLOGY IN THE CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL INDUSTRIES

موريس فرانسس، مانفريد كيرشر، و رولاند وولجيموث

*Maurice C.R. Franssen, Manfred Kircher, and Roland Wohlgemuth*

#### Introduction المقدمة (٩، ١)

لم تسهم المنتجات الصناعية الكيميائية والدوائية على المستوى الاقتصادي الصغير والكبير في وفورات التكاليف فحسب، ولكن أيضاً في التقدم الكبير في نوعية الحياة، والصحة اليومية، والتغذية، وحماية البيئة في الكثير من المناطق في جميع أنحاء العالم. تهدف المبادرات العالمية، على سبيل المثال برنامج الأمم المتحدة للبيئة، ومؤتمر القمة العالمي للتنمية المستدامة في جوهانسبرغ، وبرنامج إستراتيجية المنتج العالمية والرعاية المسؤولة للمجلس الدولي للرباطات الكيميائية (ICCA) إلى تقليل الآثار السلبية المهمة لاستخدام وإنتاج المواد الكيميائية على البيئة وصحة الإنسان.

تتطلب هذه الأهداف تحسينات مستمرة على مستويات عديدة، ولكن من الواضح أن طريقة التفاعل الأكثر انتقائية والانتقال من القياس المتكافئ للتفاعلات الحفزية سوف يكون لها تأثير أساسي وإيجابي. وتقلل تقنيات العمليات الحفزية كمية النفايات للكيلوجرام الواحد من المنتج بدلاً من التخليق العضوي الكلاسيكي الذي يتطلب كواشف مساعدة في كميات متكافئة، ويتم تحسين البيئة والصحة والسلامة من خلال تجنب استخدام المذيبات العضوية السامة. والتقليل من النفايات فيما يتعلق بالمنتج هو هدف كل من الكيمياء الخضراء والتقنية الحيوية البيضاء/الصناعية حيث تقود محفزات الطبيعة الطريق في تصاميم العمليات الصناعية. ولأن المحفزات الحيوية تحلل بسهولة وغير سامة، فإن الإجراءات ذات استخدام أدوات التحفيز الحيوية لم تجد طريقها إلى الإنتاج الصناعي على المستوى الكبير في الصناعات الكيميائية والدوائية فحسب، ولكنها أيضاً تجد تطبيقات متزايدة في مرحلة البحث والتطوير. وسوف تعطي نظرة عامة على بعض هذه العمليات في هذا الفصل.

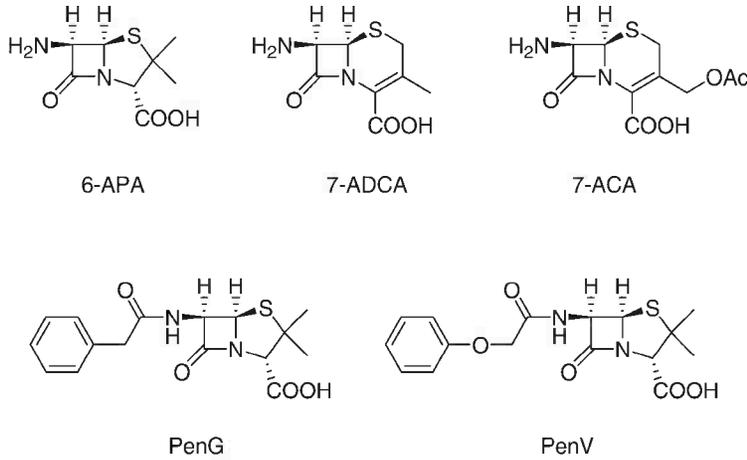
## (٩, ٢) عمليات الحفز الحيوية: وجهات النظر العلمية والتقنية

## Biocatalytic Processes: Scientific and Technological Perspectives

## (٩, ٢, ١) المضادات الحيوية البيتا-لاكتام

## (٩, ٢, ١, ١) النواة The Nucleus

المضادات الحيوية البيتا-لاكتام هي مركبات ثنائية الحلقة تنتج بواسطة فطريات من أجناس البنسليوم والسيفالوسبوريوم. هناك فئتين: البنسيلينات والسيفالوسبورينات (الشكل رقم ١, ٩) حيث يكمن الفرق بين الاثنين في النواة: البنسيلين لديه نواة حمض ٦-أمينو البنسيللانيك (6-APA) في حين أن السيفالوسبورينات لديها نواة حمض ٧-أمينو السيفالوسبورانيك (7-ACA) أو حمض ٧-أمينو دي أسيتوكسي السيفالوسبورانيك (7-ADCA). وكان البنسيلين ج (PenG) والبنسيلين في (PenV) أول مضادات البيتا-لاكتام المتاحة تجارياً [١].



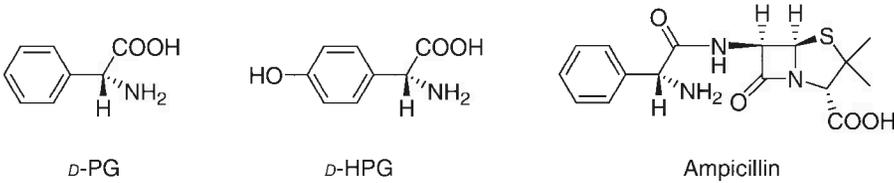
الشكل رقم (٩, ١). تركيب بعض المضادات الحيوية البيتا-لاكتام وأنويتها. 6-APA، ٦-أمينو البنسيللانيك؛ 7-ADCA، حمض ٧-أمينو دي أسيتوكسي السيفالوسبورانيك؛ 7-ACA، أمينو السيفالوسبورانيك؛ PenG، البنسيلين ج؛ PenV، البنسيلين في.

مع ظهور زيادة مقاومة الميكروبات منذ أواخر خمسينيات القرن الماضي، أصبح البحث عن مشتقات نشطة حقيقية. لأن النشاط يكمن في جزء البيتا-لاكتام، فقد كان لابد من إيجاد طريقة لاستبدال السلسلة الجانبية، وكان عزل نواة البيتا-لاكتام في ذلك الوقت خطوة لا مفر منها. وكيميائياً، فإن هذا هي مهمة هائلة لأنه على الرغم من أن كلاً من البيتا-لاكتام والارتباط بين السلسلة الجانبية والنواة هو روابط أميدية، إلا أن البيتا-لاكتام هي إلى حد بعيد الأكثر نشاطاً بسبب توتر الحلقة. وفي شركة جست بروكاديس (الآن DSM لمضادات العدوى، دلفت، هولندا)، تم تطوير عملية كيميائية ذات أربع خطوات للانقسام الانتقائي للسلسلة الجانبية للبنسيلين ج، والتي تشمل خطوة حماية-نزع الحماية، والاستخدام المكثف للمواد الكيميائية الخطرة مثل خماسي كلوريد الفوسفات، والتبريد لدرجات

حرارة منخفضة. وعلى الرغم من كونه تحفة كيميائية، فإن العبء البيئي لهذه العملية كان كبيراً؛ بسبب النفايات السامة والمذيبات وارتفاع تكاليف الطاقة. وليس من المستغرب بعد ذلك أن يبدأ البحث عن عملية إنزيمية انتقائية. في بدايات ستينيات القرن الماضي (عام ١٩٦٠م) أعلنت أربع شركات (باير، وبيتشام، وبريستول، وفايزر) كل على حدة اكتشاف إنزيم قد يقسم البنسيلين ج إلى 6-APA وحمض فينيل الخليك. واستغرق الأمر بعض الوقت قبل أن تصبح هذه العملية قادرة على المنافسة، ولكن سادت عملية التحفيز الحيوي منذ اللحظة التي جاءت فيها الإنزيمات القوية والمقيدة في السوق. تستخدم معظم الشركات البنسيلين أسيليز من إشيريشيا قولون. ويصل السوق العالمي للـ 6-APA الآن إلى ٣٥٠٠٠ طن في العام. وأهم ميزة لهذه العملية هي الفعالية البيئية. تنعم السيفالوسبورينات بأهمية متزايدة؛ لأن لديها نشاط مضاد للجراثيم أقوى، وخاصةً ضد السلالات المقاومة للبنسيلين. وعلاوةً على ذلك، يمكن تحملها بصورة أفضل من قبل الأشخاص الذين لديهم حساسية للبنسيلين. وكان تغيير السلسلة الجانبية ضرورياً؛ بسبب النشاط الحيوي المنخفض للمنتجات الفطرية الأساسية. تختلف السلاسل الجانبية في السيفالوسبورينات عن تلك في البنسيلينات (عادةً مشتقات حمض الأديبيك) وليست إزالتها عادية. لذلك، تم تطوير طرق توسيع الحلقة الكيميائية من البنسيلين، والبنسيلين ج بشكل رئيس، متبوعةً بالإزالة الكيميائية أو الإنزيمية المعروفة للسلسلة الجانبية لإعطاء 7-ADCA و 7-ACA. ولدي شركة DSM الآن عملية تخمير مباشرة للسيفالوسبورينات تعتمد على البنسيليوم كريوزجينوم المعدل وراثياً، يعقبها تحلل لسلسلة الأديبيك الجانبية بواسطة الأسيليز لتعطي 7-ADCA. وأكبر مزايا هذه العملية هو تكاليف الإنتاج المنخفضة إلى حد كبير وخفض استعمال الكواشف والمذيبات (انظر المرجع [٢] لتاريخ هذه العملية).

### (٢, ١, ٢, ٩) السلاسل الجانبية The Side-Chains

تم تطوير طائفة واسعة من السلاسل الجانبية للمضادات الحيوية البيتا-لاكتام على مدى الأعوام، وهي كثيرة جداً لذكرها هنا. أهمها (الشكل رقم ٩, ٢) هي دي-فينيل جليسين (D-PG) ودي-هيدروكسي فينيل جليسين (D-HPG). يعطي الجدول رقم (٩, ١) نظرة عامة على المنتجات وأسواقها.



الشكل رقم (٩, ٢). سلاسل جانبية مهمة للمضادات الحيوية البيتا-لاكتام شبه المخلفة وتركيب مثل هذه المضادات الحيوية D-PG، دي-فينيل جليسين؛ D-HPG، دي-هيدروكسي فينيل جليسين.

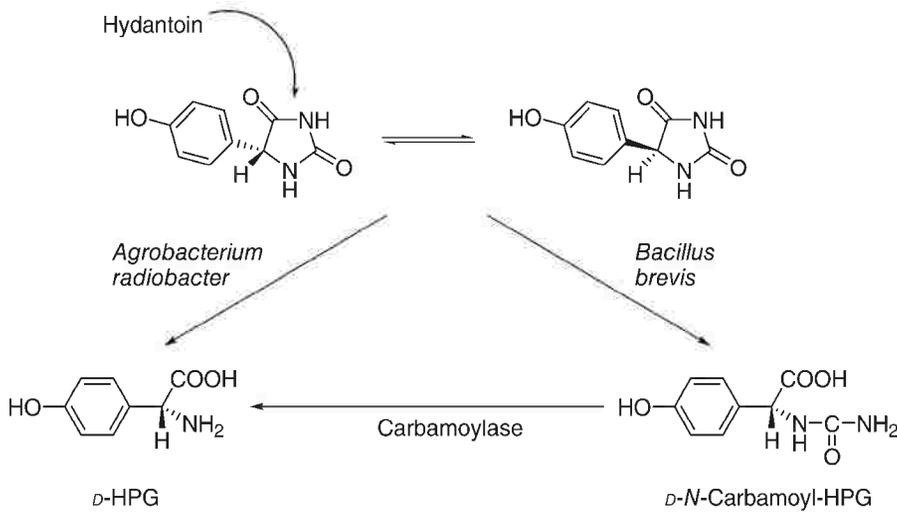
الجدول رقم (١, ٩). بعض المضادات الحيوية شبه المخلفة وأسواقها.

السوق العالمي التقريبي (طن/ عام، ٢٠٠٦م)	التقديم إلى السوق	اسم المنتج	النواة	السلسلة الجانبية
٥٠٠٠	١٩٦١م	أميسيلين	6-APA	د-فينيل جليسين
٤٠٠٠	١٩٧٠م	سيفاليكسين	7-ADCA	
١٦٠٠٠	١٩٧٢م	أموكسيسيلين	6-APA	د-هيدروكسي فينيل جليسين
١٠٠٠	١٩٧٧م	سيفادروكسيل	7-ADCA	

6-APA، ٦-أمينو البنسلانينك؛ 7-ADCA، حمض ٧-أمينو دي أسيتوكسي السيفالوسبورانيك.

تؤدي السلاسل الجانبية PG و HPG فقط إلى مضادات حيوية نشطة عندما يقترن متشابه الـ دي النقي بنواة البيتا-لاكتام. والتخلق الكيميائي للراسيات يكون عديم الأهمية، ولكن يجب فصل المتشابهات الفراغية الفردية. وقد تم ذلك من خلال البلورة ثنائية المتشابهات، وهو ما يعني أن الحمض الفراغي (مثل حمض الكامفور كبريتيك) يضاف إلى الراسيات، مشكلاً أملاح ثنائية المتشابهات، والتي يتبلور منها واحد فقط. ولا تزال هذه هي العملية المسيطرة على إنتاج الـ D-PG [٢]، على الرغم من وجود العمليات الإنزيمية [٣].

من ناحية أخرى، يتم فقط إنتاج الـ D-HPG بواسطة عملية إنزيمية عن طريق الهيدانتوين (المخطط رقم ١, ٩) [٢]. ولعملية الهيدانتوين ميزة أن وسط التفاعل يتراسم تلقائياً تحت ظروف التفاعل، متجنباً الترسيم الكيميائي للمتشابهات غير المرغوب فيها، مما يؤدي إلى كفاءة إنتاج أعلى بكثير وجودة منتج محسنة.

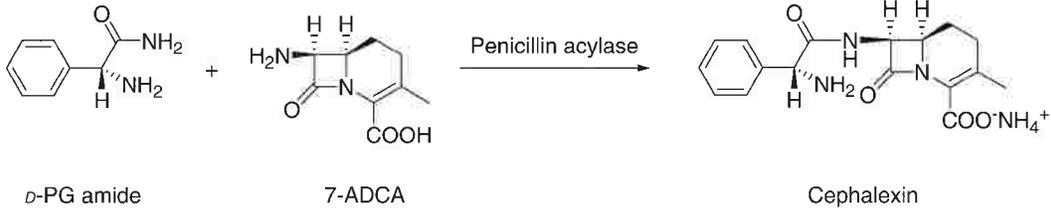


المخطط رقم (١, ٩). عملية الهيدانتوين لإنتاج دي-هيدروكسي فينيل جليسين.

في البداية سوقت شركتين عملية الهيدانتونين للـ D-HPG تجارياً: شركة كانيجافوشي اليابانية (الآن كانيجا) وشركة ريكورداتي الإيطالية. وفي الطريقة اليابانية يتم فقط كسر رابطة كربون-نيتروجين واحدة بواسطة الهيدانتونين في الباسيلس بريفيس، مما يعني أنه يجب إزالة جزء اليوريا المتبقي بخطوة إنزيمية أخرى. ويقسم الكائن الدقيق ريكورداتي كلاً من الرابطين، لذلك فهذه هي عملية أحادية الخطوة. ومؤخراً، أدخلت شركة كاديكا أيضاً إنزيم دي-كاربامويليز في عملياتها.

### (٣, ١, ٢, ٩) التخليق نصف الإنزيمي Enzymatic Semi-Synthesis

تم تصنيع مضادات حيوية بيتا-لاكتام جديدة عن طريق إضافة سلاسل جانبية جديدة لبيئة تخمير الفطر، وكان لهذا نجاحاً محدوداً؛ بسبب امتصاص الفطريات الانتقائي لهذه المركبات. وتم تطوير عمليتين للاقتزان الكيميائي بين السلسلة الجانبية والنواة، وكلاهما يعاني من عيوب مثل التبريد العميق (طريقة ملح داين) والمواد الكيميائية النشطة (طريقة ملح داين وأنهدريد داين). وأدت البحوث الأخيرة، بدايةً في شركة نوفو، الدنمارك، والتي أكملتها شركة DSM وجامعات دلفت، وجرونينجن، ونيميغن، وفاجينينجن في هولندا إلى تطوير عملية اقتران إنزيمية، باستخدام نفس البنسيلين أسيليز أو شبيهه له كما يتم استخدامه في إزالة السلسلة الجانبية في المضادات الحيوية البيت-لاكتام الفطرية (انظر المخطط رقم ٢, ٩). لأسباب الديناميكية الحرارية، يستخدم أميد الـ D-(H)PG بدلاً من الحمض الحر.



المخطط رقم (٢, ٩). التكوين الإنزيمي للمضادات البيت-لاكتام الحيوية شبه المخلفة.

تم افتتاح مصنع لإنتاج السيفالكسين اعتماداً على هذا التفاعل بواسطة شركة Chemferm DSM في برشلونة (أسبانيا) في أواخر تسعينيات القرن الماضي. والعملية الجديدة لها مزايا بيئية واضحة فضلاً عن تحسين جودة وثبات المنتج [٤]. وبشكل عام ومقارنةً مع الطرق الكيميائية التقليدية، فقد أدى الجمع بين التخمير المباشر وتركيب ال-7-ADCA مع استبدال سلسلة التحفيز الحيوي الجانبية إلى تحسينات تصل إلى ٥٠٪ أو أكثر في العوامل المهمة مثل تكوين النفايات الصلبة والانبعاثات في الهواء واحتياجات الطاقة، والسمية، والمخاطر المحتملة واستهلاك الكواشف والمذيبات [٤, ٥].

**Chiral Building Blocks** (٩, ٢, ٢) وحدات البناء الفراغية

أظهرت مجموعة من دراسات الحالة أن تخليق التحفيز الحيوي غير المتماثل للعديد من وحدات البناء المهمة ليس ناجحاً فقط على مستوى البحث ولكن يمكنه أيضاً أن ينافس بنجاح على نطاقٍ صناعي مع الأساليب الكيميائية الرياضية الكلاسيكية [٦، ٧]. وإنتاج التحفيز الحيوي باستخدام الإنزيمات المحللة ثابت على الصعيد العالمي، ويجري في شركة سيجم-الدريتش أكثر من ١٠٠ تفاعل تحفيز حيوي بشكلٍ روتيني على النطاق الصناعي. وكان تطوير وزيادة المستوى لأنواع التفاعلات الإنزيمية الأخرى، مثل تفاعلات الأكسدة ذو أهمية كبيرة، لأن الأكسدة الكيميائية باستخدام مزيج من المؤكسدات النشطة والمذيبات القابلة للاشتعال تعدُّ عائقاً كبيراً على مستوى الإنتاج.

تم توطيد أول أكسدة تحفيز حيوية على المستوى الصناعي، باير-فيليجر [٨-١٠] والتي استبدلت المؤكسدات الكلاسيكية بالهواء والمذيبات القابلة للاشتعال بالماء. وهذا لم يقلل فقط مخاطر سلامة تفاعل الأكسدة الكلاسيكي ولكنه أيضاً يعني أنه يمكن القيام به بطريقة عالية التخصصية التجسيمية، مما يتيح الوصول إلى اللاكتونات الفراغية المفيدة كمواد صيدلانية بسيطة. ولا تكمن مزايا طرق إنتاج التحفيز الحيوي فقط في طريقة تصنيع المنتج ولكن أيضاً في المعرفة المكتسبة عن الطرق غير المختارة. وبالتالي يتم إنشاء شبكة من الجسور بين التفاعلات الكيميائية الرياضية، والحفزية، والحفزية الحيوية التي يمكن استناداً عليها تأسيس إنتاجات جديدة [١١].

**Building Blocks for Polymers** (٩, ٢, ٣) وحدات البناء للبوليمرات

معظم وحدات بناء البوليمرات هي مواد كيميائية، مما يعني أنها تنتج في حجمٍ كبير جداً. وتعدُّ تكاليف الإنتاج وخصائص المنتج هي العوامل الأساسية. وهذه هي منطقة صعبة الاختراق بالنسبة للتقنية الحيوية الصناعية، ليس فقط بسبب الحجم الكبير (يجب إنتاج كميات كبيرة من الإنزيمات أو الخلايا) ولكن أيضاً لأن تكاليف التطوير يجب أن تسترد وتكون هوامش الربح صغيرة في الكيمائيات الضخمة. ومع ذلك تم تسجيل بعض النجاحات الملحوظة خلال العقد الماضيين.

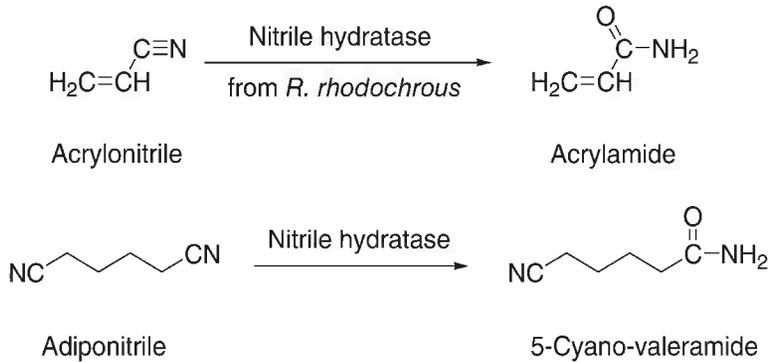
الأكريلاميد هو وحدة بناء البولي أكريلاميد، والذي يستخدم على نطاقٍ واسع في المختبر للفصل اللوني والكهربائي أو على شكل مثخن ذائب في الماء في معالجة مياه الصرف الصحي وصناعة الورق. ويصنع المونومر عن طريق إضافة جزيء واحد من الماء إلى الأكريلونيتريل، والذي يصنع بدوره من البروبين المشتق من النفط والأمونيا. وكان يتم تحويل الأكريلونيتريل إلى الأكريلاميد لعددٍ عديد باستخدام محفز قائم على النحاس عند ٨٠-١٤٠ درجة مئوية. وعلى الرغم من كون العملية فعالة، إلا أنها تنتج مياه صرف صحي سامة تحتوي على

النحاس وسيانيد الهيدروجين. وتؤدي درجة الحرارة العالية المستخدمة إلى بلمرة غير مرغوب فيها للأكريلاميد مما يجعل من الضروري تنقية المنتج.

في سبعينيات القرن الماضي، تم العثور في مختبر البروفيسور هيدياكي يامادا في كيوتو (اليابان) على بعض الكائنات الدقيقة التي كانت قادرة على النمو على الأكريلونيتريل. وهي تحلل وسط التفاعل لمادة الأكريلاميد، وبعد ذلك إلى حمض الأكرليك، والذي تستخدمه بعد ذلك. بعد تحسين السلالة وسبر تسلسل الجين للإنزيم المحلل الثاني، تم الحصول على كائنات حية دقيقة يمكنها تحويل الأكريلونيتريل لمادة الأكريلاميد انتقائياً (انظر المخطط رقم ٩، ٣). واستخدمت سلالة البسودوموناس كلورافيس في البداية، ولكن في وقت لاحق أصبحت سلالة الرودوكوكس رودوكروس هي المقياس. والعملية تجري في درجة حرارة أقل بكثير من العملية الكيميائية (صفر-١٥٠ درجة)، متجنباً البلمرة العفوية والتنقية فيما بعد. والعامل الأخير يبدو أنه هو عامل النجاح من الناحية الاقتصادية. فكل من وسط الفاعل والمنتج مركبات نشطة ولكن المستخلص حر الخلايا يتحمل ما يصل إلى ٥٠٠ جم/ لتر من وسط التفاعل عند التقييد في البولي أكريلاميد (منتج الملمر).

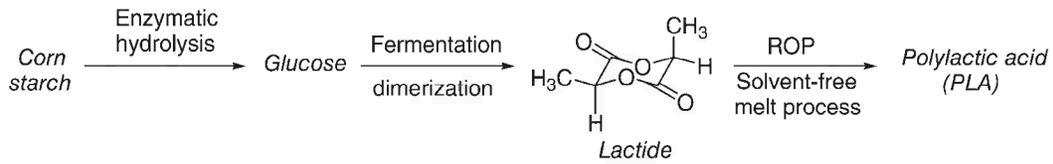
وتم تسويق العملية الإنزيمية في البداية من قبل شركة كياوايات نيتو (وهي الآن جزء من ميتسوبيشي رايون) ولكنها في الوقت الحاضر تجري في الكثير من الشركات في جميع أنحاء العالم، بما في ذلك SNF (فرنسا) وإيفونيك للصناعات (ألمانيا)، في حجم إنتاج عالمي أكثر من ٢٥٠٠٠٠ طن في العام.

وتم تسويق عملية مرتبطة عن طريق شركة دوبونت. في هذه الحالة، يحول النيتريل هيدراتيز واحدة من مجموعات النيتريل من الأديونيتريل، منتجاً ٥-سيانو فاليراميد (انظر المخطط رقم ٩، ٣)، والذي هو المادة البادئة لتخليق المبيد العشبي أزاينيدين. وتجرى العملية على نطاق عديد الأطنان. والميزة الأساسية لهذه العملية هي انتقائيتها: فالتفاعل ينتج أحادي الأמיד مع انتقائية قدرها ٩٦٪ عند نسبة تحويل ٩٧٪ [١٢-١٥].



المخطط رقم (٩، ٣). استخدام النيتريل هيدراتيز لإنتاج المواد الكيميائية الأساسية.

وقد وحدت شركتي كارجيل وداو للكيمياويات جهودهما لتسويق اكتشافهما عن إمكانية إنتاج حمض البولي لاكتيك، بوليمر ذو إمكانيات تجارية كبرى، باستخدام التقنية الحيوية الصناعية. وتظهر العملية في المخطط رقم (٩, ٤). في الخطوة الأولى، يتم تحليل نشا الذرة بإنزيمات الجلوكوأميليز والبوليولانيز لإنتاج شراب الجلوكوز، والتي هي ربما أكبر، وأقدم وأعرق تقنية حيوية صناعية على الأرض! ويتم بعد ذلك تخمير الجلوكوز لاهوائياً بواسطة الكائنات الدقيقة المحسنة إلى حمض إل-لاكتيك، والذي يتحد مع جزيء آخر كيميائياً إلى الاكتيد (انظر المخطط رقم ٩, ٤). ويتم أيضاً الحصول على جزء ضئيل من حمض اللاكتيك، مما يؤدي إلى بعض من دي-إل-لاكتيد، والذي لا بد من إزالته عن طريق التقطير. وتتم بلمرة اللاكتيد كيميائياً.



المخطط رقم (٩, ٤). عملية كارجيل-داو لحمض البولي لاكتيك.

وحمض البولي لاكتيك (PLA) له خصائص مماثلة لتلك التي للبولي إيثيلين والبولي بروبيلين. فهو أقل مقاومة للحرارة ولكنه أكثر قابلية للتحلل الحيوي. ولدى شركة أعمال الطبيعة المشتركة (تملكها حالياً كارجيل) مصنع لإنتاج PLA في بلير (نبراسكا) منذ عام ٢٠٠٢م، مع قدرة إنتاج ١٤٠٠٠٠ طن سنوياً (الشكل رقم ٩, ٣).

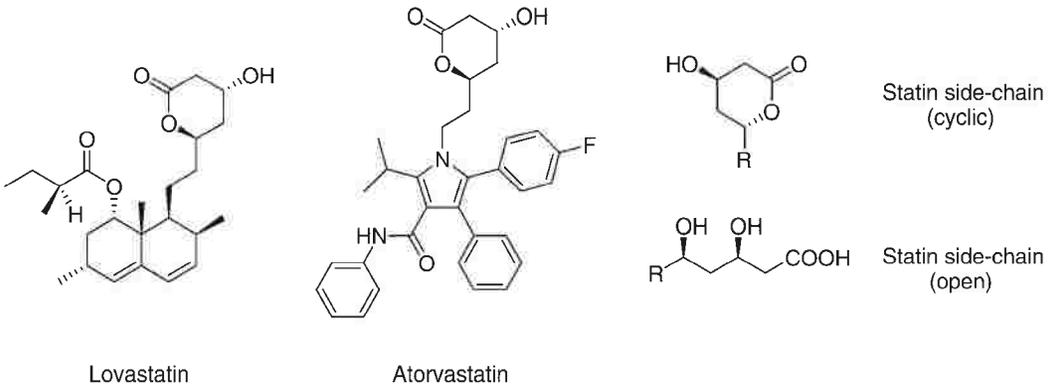


الشكل رقم (٩, ٣). مصنع شركة أعمال الطبيعة، بلير، نبراسكا، الولايات المتحدة الأمريكية.

تنتج دويونت لبنة بناء أخرى للمواد البلاستيكية وهي ١،٣-بروبانديول من الجلوكوز في عملية تخمير. وتم تحسين الكائن الدقيق على النحو الأمثل باستخدام هندسة المسار. ويعطي اقتران ١،٣-بروبانديول مع حمض التيرفثاليك بوليمر يدعى Sorona™، والذي يغزل إلى ألياف. ويستخدم حالياً في الملابس والسجاد، حيث إنه يحظى بتقدير لنعومته المحسنة، وقابليته للصبغ، وتمدده. وتكلفة تصنيع ال-١،٣-بروبانديول المنتج عن طريق التخمير منخفضة عن الذي ينتج بالعمليات الكيميائية المنافسة، ويستخدم مواد خام متجددة [١٦]. وحتى الآن تتم عملية البلمرة كيميائياً، إلا أن الأبحاث على البلمرة الإنزيمية مازالت مستمرة. وأظهرت أبحاث مجموعات جروس [١٧] وهيس [١٨] أن الليبيزات، خاصة الليبيز المقيد (Novozym 435) B من الكانديدا أنتاركتيكا هو محفز ممتاز لبلمرة اللاكتونات. كما تم ذكر البلمرة انتقائية المشابهات مع الثبات داخل الخلايا [١٩].

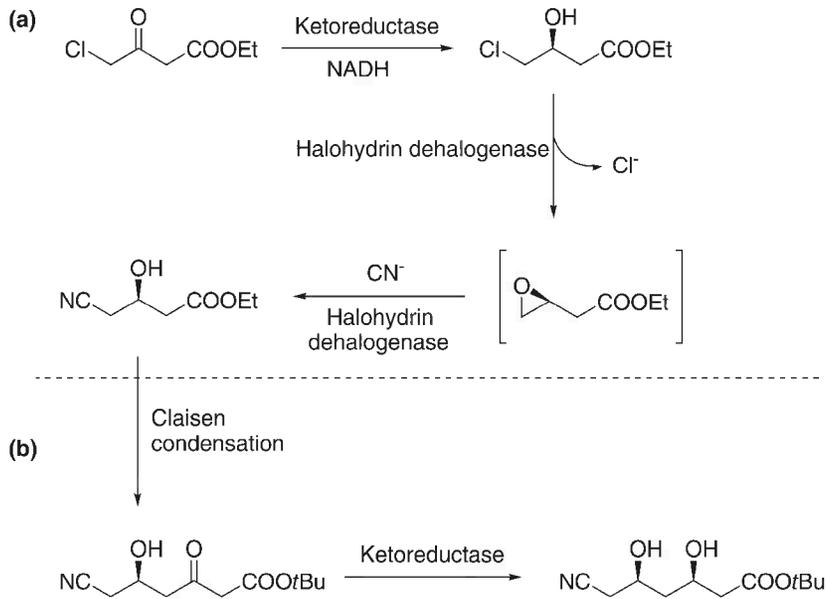
#### (٩، ٢، ٤) الكيمائيات الدقيقة: الستاتينات Fine Chemicals: Statins

إن ارتفاع مستوى الكولسترول هو مصدر قلق متزايد على صحة الإنسان وليس من العجب أن دواءً منخفضاً للكولسترول مثل أتورفاستاتين (ليبيتور، الشكل رقم ٩، ٤) هو أفضل دواء يبع في الوقت الحالي في جميع أنحاء العالم [٦]. الستاتينات هي مثبطات لإنزيم HMG-CoA ريداكثيز، وهو إنزيم ضروري في التخليق الحيوي للكولسترول. وهي تتكون من لب من عدة حلقات والتي يمكن أنيلتها (على سبيل المثال، لوفاستاتين) أو استبدالها مع حلقاتٍ أخرى (على سبيل المثال، أتورفاستاتين). في جميع الحالات هناك حمض بيتا-هيدروكسي نقي المشابهات وظيفي مرتبط باللب كسلسلة جانبية. وبسبب السوق الضخمة المحتملة للستاتينات، فقد قامت الكثير من الشركات المختلفة بتسويق الطرق لإنتاج سلاسل جانبية نقية المشابهات تجارياً.



الشكل رقم (٩، ٤). نوعين مهمين من الستاتينات وسلاسلها الجانبية.

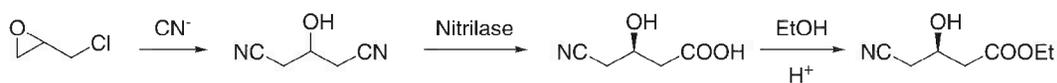
وقد طورت شركة كوديكسيس عملية لإعداد المركز الفراغي الأول في سلسلة الستاتين الجانبية. ويمكن إدخال المركز الثاني بسهولة عن طريق الحث غير المتماثل باستخدام المركز الفراغي الأول. وتتكون عملية كوديكسيس من سلسلة إنزيمية ذات خطوتين (المخطط رقم ٥، ١٩). في الخطوة الأولى، يحدث الاختزال الانتقائي للمجسمات واتجاه التفاعل للإستر الإيثيلي لحمض ٤-كلورو-٣-كيتوكابروييك بإنزيم الكيتوريداكتيز من الكانديدا ماجنوليا، المستنسخة في إيشيريشيا قولون [٢٠]. ويتم إعادة تدوير العامل المساعد NADH باستخدام الجلوكوز ديهيدروجينيز المحسن. ويجب تحسين الكيتوريداكتيز وراثياً من أجل تلبية الخصائص المطلوبة: تحمل وسط التفاعل لأكثر من ١٥٠ جم/لتر، ونسبة وسط التفاعل/الإنزيم < ١٠٠، وزيادة المتشابهات لأكثر من ٩٩,٥٪، تردد تحول العامل المساعد أعلى من ٢٠٠٠٠ وزمن تفاعل أقل من عشر ساعات. في الخطوة الثانية، يتم استخدام إنزيم الهالوهيدرين ديهالوجينيز المعبر في إيشيريشيا قولون لتكوين إيبوكسيد وبعد ذلك فتحه باستخدام أيون السيانيد. وهذا الإنزيم ليس محفزاً جيداً للأسيتنة، لذلك تم تحسينه باستخدام التطور الموجه. وكانت المعايير الواجب توافرها في هذه الحالة: تحويل كامل لـ ١٠٠ جم/لتر على الأقل، وإنتاجية حجمية < ٢٠ (جم منتج/لتر.ساعة.جم إنزيم)، وطريقة عزل بسيطة للمنتج وعملية صياغة بسيطة للإنزيم. وقد أمكن في نهاية المطاف الحصول على إنزيم ذو ٣٧ طفرة وله إنتاجية حجمية محسنة بحوالي ٤٠٠٠ ضعف [٢١]. وتجري العملية برمتها الآن على نطاق المتر المكعب، وتنتج أطنان من المنتج.



المخطط رقم (٥، ٩). عمليات شركة كوديكسيس لسلسلة الستاتين الجانبية.

إن الميزة الأساسية لتفاعل الأسينة الإنزيمي هو أن التفاعل نظيف وتتكون نواتج ثانوية ليس من الصعب التخلص منها. وتسبب النواتج النموذجية في الأسينة الكيميائية للهيدروكسي نيتريلات تدهوراً في المنتج إذا لم يتم اتخاذ احتياطات خاصة [٢٢]. وقد فازت عملية كوديكسيس بجائزة الكيمياء الخضراء الرئاسية في عام ٢٠٠٦ م. مؤخراً، تم إدخال المركز الفراغي الثاني للسلسلة الجانبية للسستاتين عن طريق التحفيز الحيوي باستخدام كيتوريداكتيز آخر (المخطط رقم ٥، ٩ ب). تم تخليق وتحسين عدة جينات لإنزيم الكيتوريداكتيز باستخدام التطور الموجه. وقد وجدت زيادة قدرها ٢٠ ضعفاً في النشاط بعد خمسة محاولات، ولكن هذا لا يزال غير جيد بما فيه الكفاية. وباستخدام نموذج مبني على التراكيب القائمة، تم تشييد مكتبة اندماجية للجينات شبه المخلفة ذات طفرات في الموقع النشط. وأسفر هذا عن إنزيم قادر على العمل في تركيزات من وسط التفاعل أعلى من ٣٠٠ جم/ لتر عند تحميل منخفض للإنزيم، معطياً نسبة تحويل ٩٩،٣٪ وزيادة في ثنائية التشابهات < ٩٩،٩٪. ومتابعة العمل سهلة وتحتاج العملية إلى مذيبات عضوية أقل بكثير من العملية الكيميائية (٢، ٣ مقابل ٢١، ٢٢ لتر/ كجم). وتجرى العملية الآن على نطاق المتر المكعب في الهند.

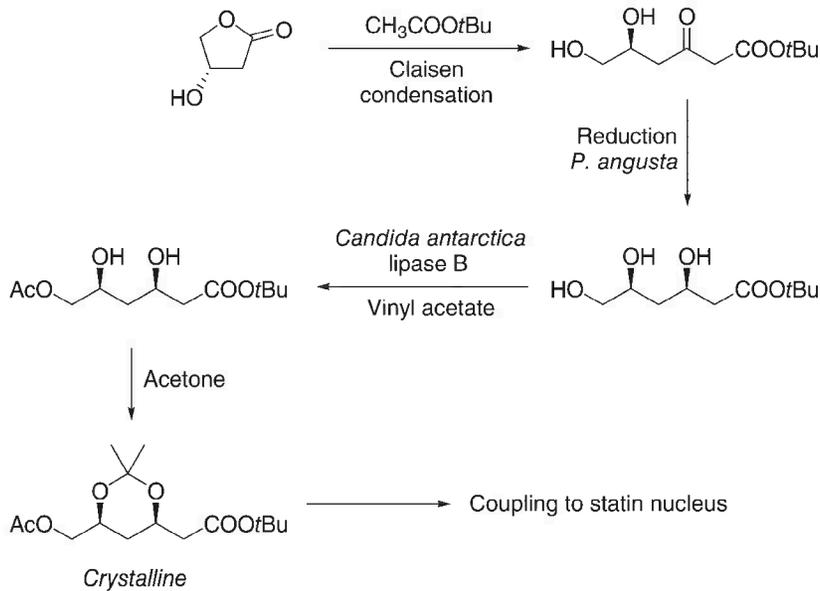
وقد أسست شركة ديفيرسا طريقة ناجحة لنفس وحدة البناء للسستاتين مثل التي انتجت في البداية بواسطة شركة كوديكسيس (المخطط رقم ٦، ٩). يبدأ نهجها من إيبكلوروهيدرين الراسمي، والذي يعطي عند معاملته بفائض من السيانيد الداى نيتريل قبل الفراغي. ويعطي التحلل المائي الانتقائي بواسطة إنزيم نيتريليز والأسترة اللاحقة حمض (ر)-٤-سيانو-٣-هيدروكسي-البيوتانويك نقي المشابهات [٢٣، ٢٤]. وتم تحسين النيتريليز باستخدام التطور الموجه ويجول وسط التفاعل كلياً عند تركيزات أكبر من ٣٦٠ جم/ لتر [٢٥]. والميزة الرئيسة لهذه العملية هي التكلفة المنخفضة للمادة البادئة إيبكلوروهيدرين، والتي تكلف فقط ٢ يورو/ كجم. وكان الدافع الآخر لهذه العملية هو توافر مجموعة كبيرة من إنزيمات النيتريليزات في شركة ديفيرسا، وأحدها كان مناسباً بشكل مثالي لهذا التطبيق.



المخطط رقم (٦، ٩). عملية شركة ديفيرسا للسلسلة الجانبية للسستاتين.

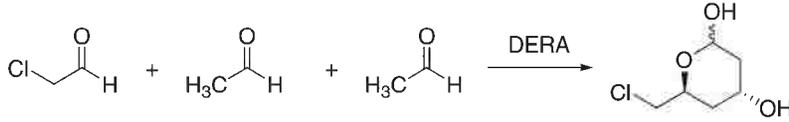
وقد تم تطوير منتج مماثل (بالكلوريد بدلاً من السيانيد) بواسطة شركة كانিকা منذ عام ٢٠٠١ م ويتم عن طريق الإختزال الإنزيمي للكيتون المناظر. ومع ذلك، فإن هذا النهج يتطلب أن تستخدم كيمياء الأسينة الصعبة في وقت متأخر من مخطط التخليق.

وتماماً مثل شركة كوديكسيس، طورت شركة أفيسيا (الآن NPIL الصيدلية) أيضاً عملية باستخدام الكيتوريداكتيز (المخطط رقم ٧، ٩). والمادة البادئة هي (إس)-٣-هيدروكسي بيوتيرولاكتون نقي المشابهات، والذي يتوفر تجارياً. ويقترن هذا المركب في وقت لاحق بثلاثي-بيوتيل الأسيتات بواسطة تكثيف كلايزين. ويتم اختزال المنتج بعد ذلك انتقائياً مجسماً باستخدام الكيتوريداكتيز من البيشيا أنجوستا، معطياً تحويل  $< 96\%$ ، وزيادة ثنائية المشابهات  $< 99\%$ ، وزيادة المشابهات  $< 99\%$  [٢٦]. وتم تطوير العملية للتريول الفراغي من ١ جم إلى ١ طن في أقل من عام. وينتج هذا المركب بواسطة شركة NPIL الصيدلية على مستوى ٧٠٠٠٠ لتر، معطياً أطنان من المنتج سنوياً. ولاقتران نواة الستاتين، لابد من القيام ببعض كيمياء وقاية المجموعات. يجب حماية مجموعات الهيدروكسيل الثانوية لتسهيل الاقتران الانتقائي لمجموعة الهيدروكسيل الأولية إلى النواة. ومع ذلك، تؤدي الحماية بواسطة الأسيتون إلى الأسيتونويد الخاطئ، وعليه يجب حجب مجموعة الهيدروكسيل الأولية بالفعل الانتقائي لاتجاه التفاعل لإنزيم الليبيز (الليبيز ب للكانديدا أنتاركتيكا) وخلات الفينيل. هذا التفاعل سريع ( $> 5$  ساعات للتحويل الكامل) وعالي الانتقائية لاتجاه التفاعل. وتعطي المعاملة اللاحقة بالأسيتون السلسلة الجانبية المحمية بشكل مناسب. وليس من الضروري إعادة تدوير الإنزيمات المستخدمة؛ نظراً لأنها رخيصة بما فيه الكفاية. والمزايا الرئيسة لهذه الطريقة هي الحماية عالية الانتقائية للمجمعات للغاية للاختزال بواسطة البيشيا أنجوستا، والحماية عالية الانتقائية لاتجاه التفاعل للتريول والطبيعة البلورية لأسيتونويد الاستيل التي تسمح بالتنقية عن طريق التبلور.



المخطط رقم (٧، ٩). عملية شركة أفيسيا للسلسلة الجانبية للستاتين.

وشرعت شركة DSM في طريقة تعتمد على الألدوليزات. وقد أوضح البروفيسور تشي-هوي وونج (سكريس، سان دييجو، الولايات المتحدة الأمريكية) أن إنزيم ألدوليز ٢-ديوكسي ريبوز-٥-فوسفات (DERA) يكون قادراً على أن يقرب ثلاثة ألدهيدات على التوالي وبطريقة عالية الانتقائية للمجسمات. وتكون الانتقائية في كل خطوة أقل من ٩٨٪، ولكن لا يتم قبول المكونات المجسمة الطفيفة كوسط للتفاعل في تفاعل الألدول الثاني، مما يؤدي إلى زيادة مرتفعة في ثنائية التشابهات بشكل استثنائي [٤٥]. ومن أجل تكوين سلسلة الستاتين الجانية، يجب أن يقترن جزئين من الأستالديهد بجزء واحد من كلورو أستالديهد (المخطط رقم ٨، ٩). وهذا يطرح مشكلة إذ إن الكلورو أستالديهد يثبط الإنزيم الأصلي عند التركيزات المستخدمة صناعياً. وأدت الطفرات العشوائية للـ DERA إلى مكتبة من ١٠٠٠٠ مستنسخ والتي تم فحصها باستخدام GC-MS-MS لمقاومة الكلورو أستالديهد وتكوين المنتج النهائي. وتم تحليل أفضل الطفرات، وأثبت توليف الطفرات كونه مفيداً. وفي النهاية، تم الحصول على طفرة مزدوجة والتي تم تفعيلها حتى بواسطة الكلورو أستالديهد. والعملية لديها ميزة تكوين مركزين فراغيين في خطوة واحدة من مادة غير فراغية رخيصة جداً، مما أدى إلى ١٠٠٪ إنتاجية/١٠٠٪ زيادة التشابهات نظرياً. والحقيقة أن شركة DSM لها موقف قوي في مجال الألدوليزات كان عاملاً رئيساً في تطوير هذه العملية، والتي تم توسيع نطاقها إلى المستوى الصناعي.



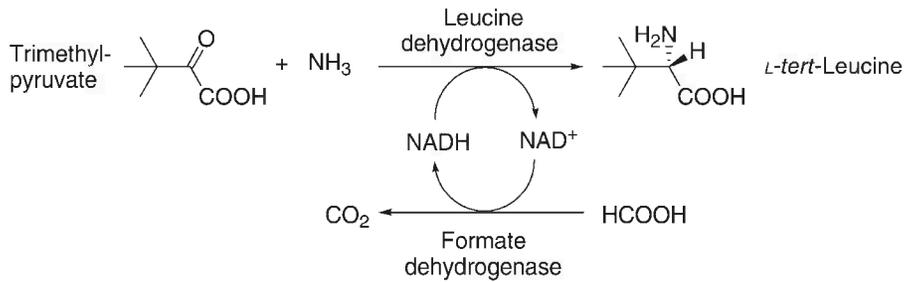
المخطط رقم (٨، ٩). عملية شركة DSM للسلسلة الجانية للستاتين.

### (٩، ٢، ٥) الأحماض الأمينية Amino Acids

الأحماض الأمينية هي منتجات في غاية الأهمية في مختلف فروع الصناعة، وخاصة في مجال صناعة المواد الغذائية والنكهات. وإل-جلوتامات هو محسن للطعم مهم جداً (الإنتاج العالمي هو ٧، ١ مليون طن سنوياً) [٦]، إل-فينيل ألانين هو الوحدة البنائية لمادة التحلية الصناعية الأسبارتام (١٠٠٠٠ طن سنوياً في عام ٢٠٠٤م) [٢٨]، حمض إل-أسبارتيك هو مادة تعطي الطعم اللاذع ووحدة بنائية للأسبارتام (١٧٠٠٠ طن سنوياً في عام ٢٠٠٤م) [www.ajinomoto.com]، ويستخدم إل-ليسين يستخدم للغذاء والأعلاف (٧٠٠٠٠٠ طن سنوياً في عام ٢٠٠٤م) [٢٨]. وتوجد لبعض الأحماض الأمينية عمليات تخمير (على سبيل المثال، حمض إل-أسبارتيك)، وللبعض الآخر توجد عمليات تعتمد على الفصل الإنزيمي الحركي (على سبيل المثال، إل-فينيل ألانين) أو التخليق الإنزيمي غير المتماثل (حمض إل-أسبارتيك). وتتم عملية تحويل داخلي مثيرة للاهتمام في شركة تانا في اليابان، حيث يتحول حمض إل-أسبارتيك إلى إل-ألانين بواسطة أسبارتات-بيتا-كربوكسيليز.

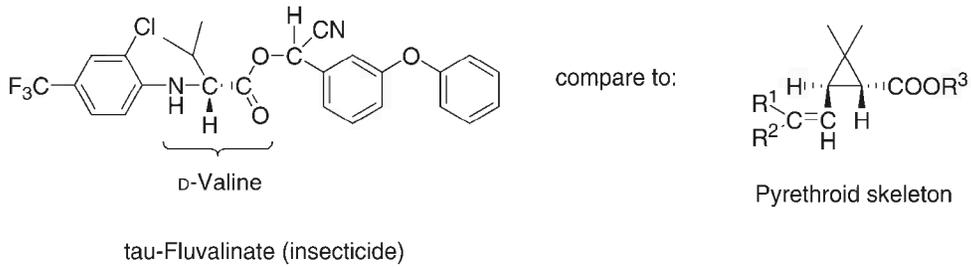
وتكون الأحماض الأمينية مثل دي-فينيل جليسين ودي-بارا-هيدروكسي فينيل جليسين مهمة جداً لصناعة الأدوية، كما نوقش في وقت سابق في هذا الفصل. وعلى الرغم من كونها من أصغر الأحماض الأمينية إلا أنه لا يزال إل-ثلاثي-ليوسين ودي-فالين مثيرين للاهتمام.

إل-ثلاثي-ليوسين هو حمض أميني غير طبيعي يستخدم كرابط فراغي في متراكبات عناصر المرحلة الانتقالية لتفاعلات الاختزال التحفيزي في صناعة الأدوية. وحجم السوق أقل من ١٠ طن في السنة ويستخدم المركب للمنتجات عالية القيمة. ونقاء المنتج هو العامل الرئيس، مما يسمح بعملية إبداعية والتي وضعتها شركة إيفونيك (المخطط رقم ٩, ٩). وتستند العملية على أمانة اختزالية لثلاثي ميثيل البيروفات بواسطة إنزيم ليسين ديهيدروجينيز في وجود الأمونيا وNADH، معطياً إل-ثلاثي-ليوسين نقي المتشابهات في عائد كمي. يتم تدوير العامل المساعد NADH بواسطة إنزيم الفورمات ديهيدروجينيز، باستخدام حمض الفورميك كمناح للإلكترون معطياً ثاني أكسيد الكربون غير الضار كناتج ثانوي. ويقترن NADH بالبولي إيثيلين جلايكول من أجل استخدامه داخل مفاعل غشاء الترشيح الفائق. وتم الحصول على عائد وقي وأرقام مبيعات تقدر بـ ١٢٥٠٠٠ [٢٨].



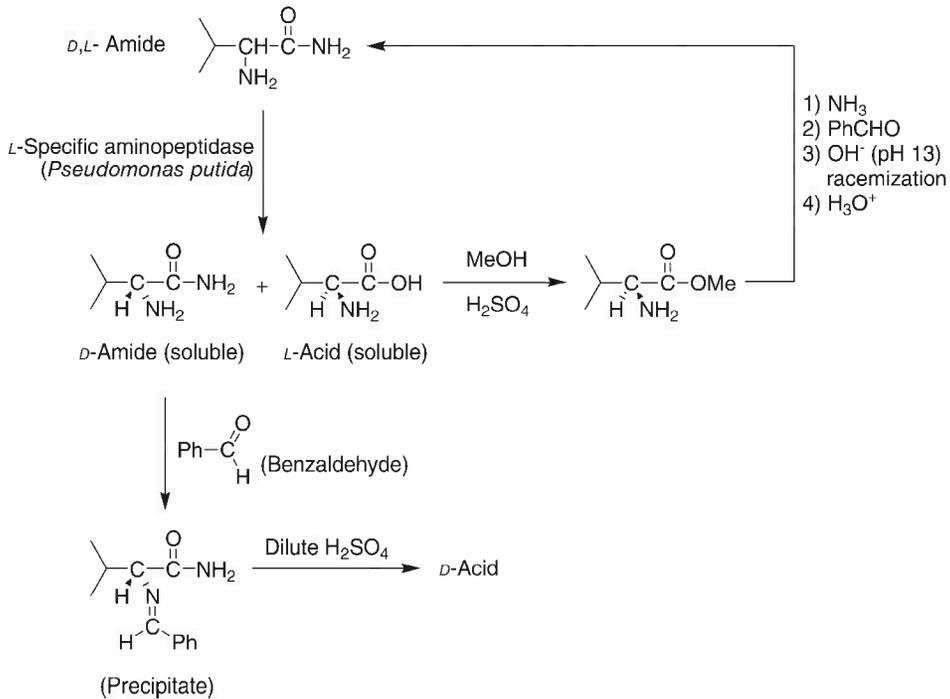
المخطط رقم (٩, ٩). عملية إل-ثلاثي الليوسين لشركة إيفونيك.

الدي-فالين هو مكون من تاو-فلوفالينات ومبيد للحشرات من فئة البيريثرويدات (الشكل رقم ٥, ٩) [٢٩]. والبيريثرين هو منتج طبيعي يتواجد في أزهار الاقحوان. ويمكن نزع سمية البيريثرين الطبيعي بسهولة نسبياً بالإنزيمات داخل الحشرات، لذلك تم تخليق متغيرات صناعية أكثر ثباتاً (البيريثرويدات). وبالإضافة إلى ذلك، فهي أكثر فعالية وأقل سمية للثدييات من البيريثرين الطبيعي. التاو-فلوفالينات من أهم البيروثرويدات. وهو يحتوي على وحدتي بناء فراغيتين، دي-فالين وسيانوهدرين فراغي، ولكن يتم تسويقها كخليط من المتشابهات الثنائية، مع تثبيت الكيمياء الفراغية فقط في جزء الحمض الأميني [٢٩].



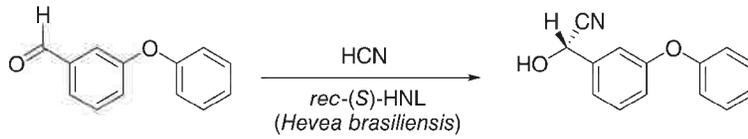
الشكل رقم (٥، ٩). تركيبات التاو-فلوفالينات والبيرثرويدات.

وتم إنتاج دي-فالين من قبل شركة DSM باستخدام، على سبيل المثال تقنية الأميديز أو الهيدانتونيز الخاصة بها. والمخطط العام لعملية الأميداز معطى في المخطط رقم (١٠، ٩) [٣]. يتم فصل الأميد الراسمي المخلوق كيميائياً بواسطة إنزيم الأمينوببتيديز الخاص للصورة إل- من البسودوموناس بوتيدا [٣٠]. ويتم ترسيب الأميد غير المتفاعل كقاعدة شيف له، في حين أن ناتج الحمض إل- يمكن ترسيمه وإعادة تحويله إلى الأميد إذا اقتضت اقتصاديات العملية. وإنزيم الأمينوببتيديز هذا هو متنوع للغاية؛ لأنه يقبل مجموعة متنوعة من السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية. ومع ذلك، يجب أن يكون هناك ذرة الهيدروجين في ذرة الكربون الألفا. وتم تطوير إنزيمات أمينوأميديز من المايكوبكتريوم نيوأورام [٣١] والأميديز من الأوكروبكتروم أنثروبي [٣٢، ٣٣] بواسطة شركة DSM وذلك لأوساط التفاعل الأكثر تقيداً.



المخطط رقم (١٠، ٩). عملية DSM للأحماض الأمينية أحادية المتشابهات.

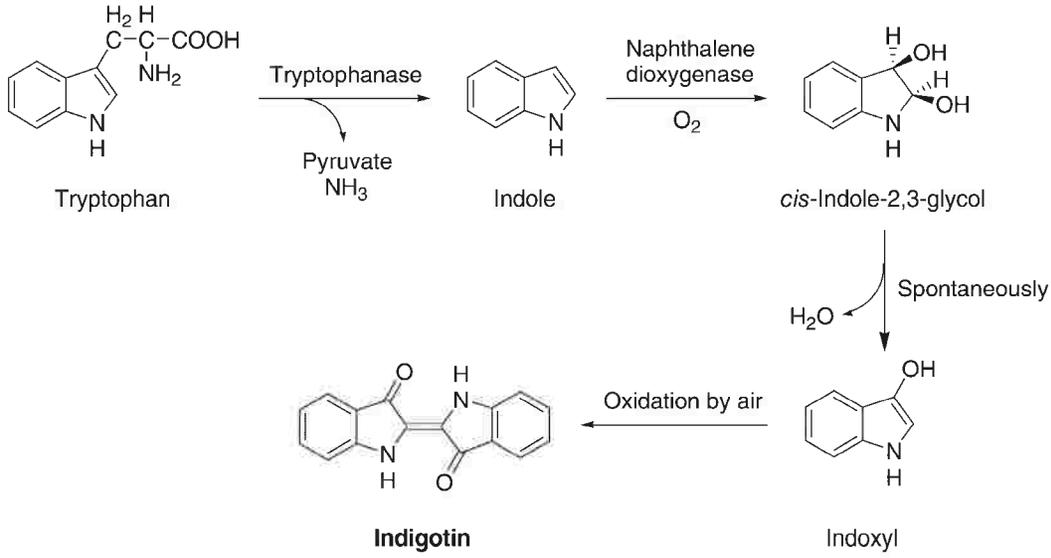
ويمكن أيضاً تخليق وحدة البناء الفراغية الثانية في صورة نقية المتشابهات بواسطة التحفيز الحيوي، على سبيل المثال، في شركة DSM ES/IM في لينز، النمسا (المخطط رقم ١١، ٩). يكون الإنزيم المستخدم هو إس-هيدروكسي نيتريل ليز من الهيفيا برازيلينسيس (شجرة المطاط) المستنسخ والمعبّر بافراط في خميرة البيشيا باستوريس. ويقبل هذا الإنزيم المتنوع كلاً من وسائط التفاعل الأليفاتية والأروماتية بتركيزات مولارية. ويمكن تخليق المتشابهة الأخرى باستخدام إنزيم آر-هيدروكسي نيتريل ليز من اللوز (برونوس أميجدالاس). والميزة الأساسية هي أنه يتم التخليق غير المتماثل، أي أن العائد النظري هو ١٠٠٪.



المخطط رقم (١١، ٩). عملية DSM لإس سيانوهايديرينات.

### (٩، ٢، ٦) الإنديجوتين Indigotin

لا تعد كل عملية تقنية حيوية نجاحاً، حتى عندما تكون الفوائد واضحة، على سبيل المثال العبء البيئي المنخفض. وافترضياً هناك المزيد من هذه الحالات، ولكن الإنديجوتين على الأقل هو أفضل حالة موثقة. الإنديجوتين هو مركب أزرق كثيف معروف لصبغة قماش الدنيم (صبغة اللون النيلي) التي أصبحت عنصراً أساسياً من نمط حياة مجموعات كبيرة من الناس في العالم الغربي. والإنتاج حوالي ٨٠٠٠٠ طن في السنة. وكان الإنديجوتين أصلاً مركباً طبيعياً مستمداً من النباتات "كاللون النيلي الصحيح" (إنديجوفيرا تينكتوريا) والنيلج (إيساتيس تينكتوريا) [www.answers.com/topic/indigo-3008]. يعتمد الإنتاج الصناعي منذ اكتشافه في أوائل القرن العشرين على تسلسل كيميائي رباعي الخطوات (ما يدعى بعملية هويان)، بدءاً من حمض الأنثرانيليك الذي يتم الحصول عليه بأكسدة محفزة بالزئبق للنفتالين المشتق من الوقود الحفريات. وتتضمن العملية أيضاً نترات البنزين السامة للاستخلاص والمحتمل تسببها للسرطان. وعن طريق الصدفة، وجد الباحثون في شركة أمجين إنتاج الإنديجوتين عندما أدخلوا جينات أكسدة النفتالين إلى إيشيريشيا القولون. وكان هدفهم هو بناء مسار لحمض السالسيليك (الوحدة البنائية للأسبرين). ومع ذلك، يبدو أن إيشيريشيا القولون تنتج الإندول عند نموها على الجلوكوز من تكسير الترتوفان (المخطط رقم ١٢، ٩). يتأكسد الإندول بواسطة الإنزيم الجديد نفتالين دي أوكسيجيناز إلى إندوكسيل الذي يتحد ثنائياً بالأكسدة عند التعرض للهواء ليعطي الإنديجوتين.



المخطط رقم (١٢، ٩). عملية أمجين للإنديجوتين.

على الرغم من أن مستوى الإنتاج الأصلي كان فقط حوالي ٢٥ ملجم/ لتر في اليوم، فقد تم تحسينه بقوة بواسطة العلماء في أمجين. ومع ذلك، فقد هذه العملية الجميلة اعتبرت ذات قدرة تنافسية عالية من قبل الصناعة الكيميائية المنتجة للإنديجوتين وقرروا تخفيض سعر الإنديجوتين بشدة من أجل إخراج المنتج الجديد من السوق. وكانوا قادرين على فعل ذلك؛ لأن نباتات الإنديجوتين انخفضت قيمتها تماماً، بحيث إنه وجب فقط تغطية تكاليف التشغيل [٣٤]. لم تكن أمجين (والتي باعت عملياتها إلى إيستمان كوداك) قادرة على استرداد الاستثمارات وتم التخلي عن العملية. وتمتلك شركة جينيكور الآن حقوق العملية التقنية ولا تزال تعمل على ذلك، ولكن حتى الآن لا يوجد مصنع تقني حيوي واسع المستوى للإنديجوتين.

وقد نشر مؤخراً التركيب البلوري لإنزيم النفتالين دي أوكسيجيناز [٣٥]. ويبدو أن له تخصصية واسعة لأوساط التفاعل مرتبطة بانتقائية مجسمات جيدة، وما لاشك فيه أنه سيؤدي إلى مزيد من البحوث لتطبيق هذا الإنزيم.

### (٩، ٣) عمليات التحفيز الحيوي: السوق والمنظور التجاري

#### Biocatalytic Processes: Business and Commercial Perspective

تنتج حالياً الصناعة الكيميائية ٢٧ مليون طن من المواد الكيميائية العضوية مثل البوليمرات والمواد الصيدلانية والكيماويات الدقيقة والمتخصصة، وأكثر من ذلك لجميع شرائح حياتنا اليومية بقيمة ٢٠٠٠ مليار يورو في جميع أنحاء العالم (الشكل رقم ٦، ٩). ويتم إنتاج معظم المنتجات عن طريق التخليق الكيميائي بدءاً من وحدات البناء الكيميائية البسيطة كتلك المنتجة من النفط الحفري [٢٧].



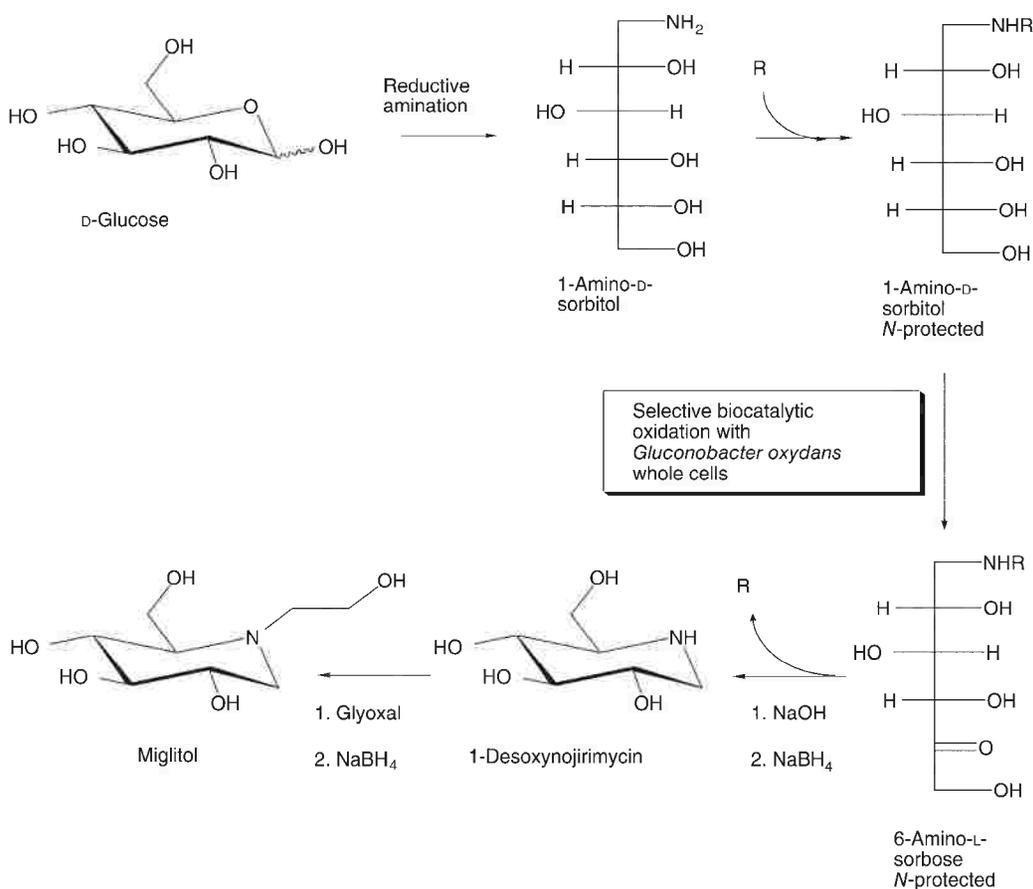
الشكل رقم (٦, ٩). مؤشر إنتاج الصناعات الكيميائية (ألمانيا).

وقد كانت التقنية الحيوية الصناعية راسخة في الصناعة الكيميائية لعقود. ومع ذلك، فإنها تساهم فقط بـ ٥٠ مليار يورو أو ٢٪ من حجم مبيعات الصناعة الكيميائية البالغ ٢٠٠٠ مليار يورو، خاصة في القطاعات الثلاثة، الأدوية، والكيمياء الدقيقة والمتخصصة وكذلك منتجات المنظفات والنظافة الشخصية. والسكر المستخرج مباشرة من الكتلة الحيوية الزراعية مثل قصب السكر أو بنجر السكر أو المنتج عن طريق التحليل الإنزيمي من نشا الذرة هو المصدر الكربوني المهيمن.

من أمثلة المنتجات النموذجية الأحماض الأمينية مثل إل-ليسين، وإل-ثريونين، وإل-تربتوفان المنتجة عن طريق التخمر أو الأحماض الأمينية الذي وكذلك المشتقات مثل إل-ثلاثي-ليسين المتوفر عن طريق التخليق الكيميائي المزدوج مع التحفيز الإنزيمي (ريكسيم، فرنسا). وتشمل أمثلة الشركات المتخصصة في الطرق الإنزيمية للمركبات نقية المتشابهات تشمل كوديكسيس وباير للرعاية الصحية. ومن الضروري لهذه التطبيقات أن تجمع بين التركيب الكيميائي مع العملية الحيوية كما على سبيل المثال، في إنتاج المكون الدوائي الفعال الميجليتول، وهو مثبط لإنزيمات ألفا-جلوكوسيدازات الفعال لعلاج مرض السكري عن طريق الفم (المخطط رقم ١٣, ٩). والمواد المذابة المتوافقة هي مجموعة من الجزيئات الواقية المخلفة بالبكتيريا المحبة للملوحة، ويتم إنتاجها بواسطة تحفيز الخلايا الكاملة في شركة بيتوب، ألمانيا. والأكثر صلة هي الإيكتوين والهيدروكسي إيكتوين، ويتم تسويق كلاً منهما كمكون وظيفي لتطبيقات العناية بالبشرة (المخطط رقم ١٤, ٩).

أطلقت شركة براين الحيوية بألمانيا، منتجاً جديداً لتنشيط للعناية بالبشرة لتنشيط الجلد يحتوي على مثبط الأنسجة المؤتلف ٢-ميتالوبروتينيز. ويعتمد نجاح السوق لهذه المنتجات غالباً على وظيفتها كوحدة بناء دوائية

عالية التخصصية أو كعامل لمستحضرات التجميل مع وظيفة غذائية أو طبية حيوية. وتكون القيمة في الوظيفة. وهذا النوع من القيمة هو ما يبحث عنه المستثمرون. ويعد خروج الممول لشركة يوليش للكيمياء والبيوتكنولوجيا إلى شركة كوديكسيس هو فقط واحد من الأمثلة الكثيرة. وتوجد أمثلة كثيرة في المجال الدوائي الحيوي وأيضاً في أسواق الطب الحيوي، ومستحضرات التجميل، والتغذية؛ على سبيل المثال تطور شركة سينوميكس منتجات وظيفية لسوق إضافات الطعام. وغالباً يكون حجم سوق المنتجات الوظيفية من هذا النوع محدوداً ولا تكون تكاليف الإنتاج لنجاح السوق.



المخطط رقم (٩، ١٣). عملية مزدوجة تخليقية/ حفزية حيوية للميجليتول.



المخطط رقم (٩، ١٤). المواد المذابة المتوافقة الإيكتونين (يسار) وهيدروكسي إيكتونين (يمين).

ومع ذلك، فإن المنتجات الضخمة تكون أيضاً راسخة، مثل الأحماض الأمينية المضافة للأعلاف (< مليون طن سنوياً؛ شركة إيفونيك، وADM، وأجينوموتو)، والفيتامينات (DSM)، وإنزيمات المنظفات (نوفوزايمس، وهنكل). يتم إنتاج جميع هذه المنتجات بواسطة عمليات التقنية الحيوية الصناعية؛ لأنها توفر الاختيار التقني الوحيد. ولا توفر الكيمياء المشتقة من المواد البادئة القائمة على البترول طرق كبيرة المستوى لإنتاج جزيئات نقية المشابهة أو الأحماض الأمينية المعقدة. ومع ذلك، إذا كان هناك طريق كيميائي متاح أو يمكن تطويره في فترة زمنية قصيرة فإن الجداول الزمنية في الصناعة الكيميائية تميل لصالح التخليق الكيميائي بسبب المعرفة الكبيرة للتفاعل والمكتسبة على مدى السنوات والقدرة على التنبؤ بالوقت اللازم لكل خطوة تخليقية.

وهناك، مع ذلك عدد من المنتجات التي ليست سهلة التحضير من المواد الأولية المتاحة عموماً أو أن طرق التفاعل المتاحة عموماً ليست انتقائية بما فيه الكفاية. وهنا في تلك الحالات وجدت عمليات التحفيز الحيوي مكانها في الصناعة الكيميائية وتستفيد الكثير من الشركات من المحفزات الحيوية في مجال الكيمياء الدقيقة والمتخصصة. بجانب حقيقة أن الصناعة هي بشكل عام أكثر دراية بالتخليق الكيميائي ويتوفر لها مصانع إنتاج منخفضة التكاليف، فإن هناك سبباً بسيطاً لانتشار التخليق الكيميائي: فحتى الآن لا تضاهي المواد الأولية المرتبطة بالكيمياء، والزيوت المعدنية مصدر الكربون؛ وذلك لكونها أرخص من مصادر الكربون الحيوية المفضلة المتجددة. إن تكلفة الكربون هي أمر حاسم لتكلفة إنتاج الكثير من المواد الكيميائية: في عام ٢٠٠٤م - عند سعر نفط أقل من ٥٠ دولار/ البرميل - تراوحت تكلفة المنتج الهيدروكربوني الخاصة بين ٤٢٪ (البوليسترين)، ٤٩٪ (راتنج PET)، و٧٩٪ (مطاط البيوتادين). وكلما تمت مقارنة التخليق الكيميائي والتقنية الحيوية الصناعية من وجهة نظر تقنية فإن تكاليف المواد الخام من الكربون يكون حاسمة، ولكن قد تجعل الجوانب الاجتماعية الاقتصادية مثل قبول المنتج من قبل العملاء، والظروف البيئية وتغيير ظروف الحدود الاقتصادية المصادر الحيوية المتجددة أكثر قدرة على المنافسة.

ومع ذلك، فإن تكلفة مصادر الكربون تتغير ببطء على مدى السنوات ولكن بشكل كبير في الأشهر الأخيرة. وقد تزايدت تكلفة النفط لمستويات غير متوقعة. فمنذ عام ٢٠٠٤م سجلت الأسواق زيادة قدرها ٥٠٪. وكان لارتفاع تكلفة النفط تأثير خطير على القدرة التنافسية لمصادر الكربون الحيوية المتجددة: في عام ١٩٩٨م كانت التكلفة لكل برميل من الزيت المعدني ١٧ دولاراً أمريكياً مقابل ٨٨ دولاراً لزيت فول الصويا، وتغيرت العلاقة اليوم إلى ٧٢ دولاراً أمريكياً مقابل ٧٨ دولاراً أمريكياً، مبينة أن النفط الحفري فقد ميزة التكلفة التقليدية. مع كون المواد الأولية الحيوية المتجددة قادرة على المنافسة، تكتسب تقنيات معالجتها أهمية جديدة أيضاً. فلم تعد التقنية الحيوية تقتصر على المنتجات حيث تكون وسيلة الإنتاج الوحيدة. ويتم تحديد القرار لعمليات التقنية

الحيوية من قبل مصدر الكربون الأكثر تنافسية. وإذا كان مصدر كربوني قائم على نبات زراعي، فإن التقنية الحيوية تكون هي العملية المفضلة.

وتفضل هذه البيئة الاقتصادية المتغيرة بالفعل المنتجات الجديدة والعمليات الجديدة. وحمض البولي لاكتيك لشركة كارجيل هو مثال لبوليمر جديد يعتمد على المواد الأولية الحيوية المتجددة. ويتم إنتاج حمض اللاكتيك عن طريق التخمير المعتمد على السكر وكذلك على البلمرة بالعمليات الكيميائية. قد يمثل الجمع بين خطوات التقنية الحيوية والعمليات الكيميائية النموذج لمستقبل الصناعة الكيميائية. وقد استثمرت كارجيل بالفعل في مصنع ينتج ١٤٠٠٠٠ طن في العام. منذ عام ٢٠٠٤م أنتجت إيفونيك العامل المضاد لكشف تسلسل الجين إيثيل ثلاثي-بيوتيل الأثير بسعة ٢٥٠٠٠٠ طن سنوياً باستخدام الإيثانول الحيوي كمادة أولية. وتنتج دوبونت للبوليمرات الهندسية البروبان ديول الحيوي كمادة بادئة لـ Sorona وغيرها من البوليمرات المهجنة.

وتعد هذه أمثلة مبكرة عندما أدت عمليات التقنية الحيوية إلى منتجات بديلة لنظرائها من البتروكيمياويات. ومعظم أكثر العمليات في خط الإنتاج. وعلى النقيض من المنتجات المذكورة أعلاه، فإن وظيفة المونومرات مثل حمض اللاكتيك أو من المنتجات مثل البروبان ديول وETBE منخفضة إلى حد ما. ويعتمد نجاحها في السوق على تكلفة الإنتاج ويكون عامل التنافسية الحاسم هو كفاءة تكلفة العملية. من وجهة نظر المستثمر قد لا ينظر إلى العملية على أنها تستحق الاستثمار فيها. ومع ذلك، قد يتغير هذا الموقف عندما يدرك المستثمرون حجم السوق الهائل لبدائل التقنية الحيوية لمنتجات البتروكيمياويات التقليدية.

ومن ناحية أخرى، قد يستغرق إقناع المستثمرين في مجال التقنية الحيوية التقليدية وقتاً طويلاً؛ لأن نموذج العمل يختلف هنا عن النموذج الأول: نحن نتحدث الآن عن منتجات منخفضة القيمة لأسواق كبيرة الحجم. سوف يزيد اهتمام المستثمرين عندما يدرك العالم المالي شخصية منصة التقنية الحيوية. يتم إنتاج جميع الوسائط الأساسية للصناعة الكيميائية مثل حامض اللاكتيك، و١،٣-بروبان ديول، وحمض السكسينيك، وحمض ٣-هيدروكسي بروبيونيك، وإن-بيوتانول، وحمض إيتاكونيك، والبروبيلين جليكول، والإيزوسوربيد، وحمض الليفيولينيك بواسطة مسارات الأيض الغذائي الأولي الميكروبي. وقد يكون تحسين مسار واحد لأغراض صناعية مكلفاً بالنسبة للمنتج الأول، ولكن متى تم ترسيخه في الصناعة الكيميائية فقد يقدم نفس المسار بعد تعديلات قليلة فقط منتج آخر عالي الحجم، وهكذا. وعليه تكتسب نظم الإنتاج الحيوية للعمليات ذات كفاءة التكلفة للمركبات الصناعية البسيطة قيمة هائلة. وسوف يسحب هذا المزيج رأس المال إلى التقنية الحيوية الصناعية، مما يسرع في تطوير عمليات التقنية الحيوية للصناعات الكيماوية.

**(٩, ٤) السلامة والصحة والمنظور البيئي Safety, Health and Environmental Perspective**

مع تزايد عدد السكان في هذا العالم، فإن الأنشطة الصناعية سوف تكون قريبة من الأماكن التي يسكنها البشر وهذا أمر لا مفر منه. ويصبح الناس بذلك أكثر عرضة لقضايا السلامة والصحة المرتبطة بأنشطة الإنتاج الصناعي هذه. ويتم تحديد قضايا السلامة والصحة عن طريق سمية وثبات المواد الكيميائية، والمواد المساعدة، والمواد الوسيطة، والمنتجات، والنواتج الثانوية. بالإضافة إلى ذلك، يجب أن يؤخذ الثبات المحدود وحدود تحمل الخطأ لبعض التفاعلات في الاعتبار. وتقدم العمليات الحيوية مساهمة مهمة في تقليل النفايات الأساسية، وتحسينات السلامة والصحة والطاقة من خلال استخدام محفزات الطبيعة، وبالتالي تجنب المواد الكيميائية شديدة التفاعل وغير الانتقائية [٣٦].

وفي الواجهة البيئية، تم استخدام التحفيز الحيوي والتحويل الحيوي لتحويل المنتجات الثانوية السامة والنفايات إلى مواد متوافقة بيئياً [٣٧]، ولكن هناك حاجة ملحة لدمج الجوانب البيئية في طرق التخليق. وقد تم البدء في دمج أدوات تحفيز حيوية انتقائية وقابلة لتطوير المستوى في تخطيط الطرق التخليقية من المواد البادئة إلى المنتج وهي تعد مفتاح النمو الاقتصادي العالمي المستدام مع إضافة بيئية [٣٨]. إن حل القضايا البيئية ليس مهماً في المحاليل الناتجة في نهاية خطوط الإنتاج فحسب، ولكن أيضاً في تجنب النفايات وتقليلها من خلال التفاعلات الانتقائية وتجنب مخططات الحماية-نزع الحماية المعقدة ذات التفاعلات الجانبية. وبالتالي يتم ترجمة التصميم والتنفيذ العملي للتفاعلات عالية الإنتاجية ومنخفضة النفايات على المستوى البيئي الدقيق إلى تحسينات هائلة على المستوى البيئي الكبير.

**(٩, ٥) التوقعات Outlook**

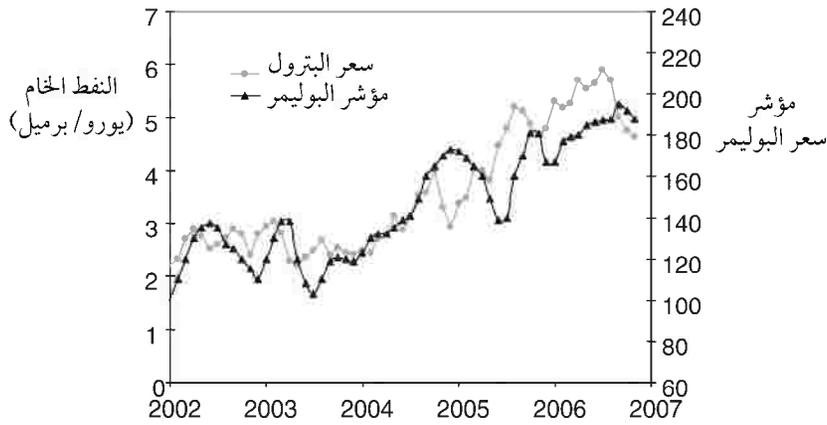
تمدنا التقنية الحيوية الصناعية بالكيمياويات، والمواد، والوقود، والأدوية على نحوٍ مستدام. وذكرت في هذا الفصل عدة عمليات ناجحة على المستوى الكبير والصغير، وينبغي التأكيد على أن هذه أمثلة فقط. فقائمة العمليات المعطاة ليست بأي حالٍ من الأحوال حصرية، وهناك الكثير من التطبيقات الأخرى، وخاصة في الكيمياء الدقيقة والمتخصصة. تؤدي التقنية الحيوية دوراً مهماً في هذه القطاعات بسبب صرامة قضايا النقاء، وبالتالي يتم استغلال انتقائية الإنزيمات المعروفة بالكامل. وبالإضافة إلى ذلك، تكون قيمة هذه المنتجات في وظيفتها، على سبيل المثال في حالة وحدة بناء دوائية في الارتباط الخاص بمستقبل أو في حالة إنزيم محفز في تفاعله الخاص.

بالنظر في سلسلة القيمة -بدءاً من المواد الخام إلى الوسائط إلى منتج المستهلك- فإن المنتجات الوظيفية تكون في أعلى السلسلة. وتعتمد قيمة هذه الجزئيات على مساهمتها في أداء المنتج النهائي أكثر منه على تكلفة الإنتاج

(COGS؛ تكلفة السلع والخدمات). ولذلك فإن هوامش الربح في هذا القطاع أعلى مما هي في القطاعات الأخرى، مما يسمح باسترجاع تكاليف تطوير المحفزات الحيوية (المحسنة) على الرغم من أن حجم إنتاج الكيماويات المتخصصة قد يكون فقط بضعة أطنان سنوياً. والمثال على منتج ذو سوق وحجم الإنتاج محدود هو إل-ثلاثي الليسين بواسطة شركة إيفونيك.

وقد احترقت أيضاً التقنية الحيوية الصناعية قطاع البوليمرات والمواد بنجاح. ويعد حمض البولي لاكتيك (PLA) مثلاً لطيفاً لمنتج جديد لديه بعض الخصائص المشتركة مع البولي إيثيلين والبولي بروبيلين الموجودين. ومع ذلك، فإنه يوضح أيضاً التأثير لتكلفة مصادر الكربون على القدرة التنافسية للتقنية الحيوية في مجال البوليمرات الضخمة منخفضة الوظيفة. وهنا يعتمد سعر السوق الممكن تحقيقه اعتماداً مباشراً على تكلفة السلع والخدمات كما يتضح من العلاقة بين سعر النفط الخام ومؤشر بوليمرات البتروكيماويات.

منذ عام ١٩٩٨م، زاد سعر النفط بنحو عامل من خمسة، كما هو موضح في الشكل رقم (٩،٧). ولهذه التكاليف المتزايدة تأثير حاسم على القدرة التنافسية للمنتجات القائمة على المصادر الحيوية المتجددة، ومن بينها بوليمرات التقنية الحيوية.



الشكل رقم (٩،٧). العلاقة بين أسعار السوق للنفط الخام والبوليمرات [٤١].

فقط أصبحت المصادر الحيوية المتجددة مؤخراً قادرة على المنافسة إلى منتجات البتروكيماويات مثل الإيثيلين والبنزين على أساس تكلفة الكربون (الجدول رقم ٩،٢).

ومع ذلك، فإن الاستثمارات في التقنية الحيوية الصناعية هي استثمارات بعيدة المدى وتحتاج أيضاً لقدرة تنافسية طويلة المدى لقاعدة المواد الخام. وعلى المدى الطويل سوف تكون تكلفة المصادر الحيوية المتجددة مدفوعة من قبل أسواق الطاقة؛ بسبب سيطرتها. في الوقت الحالي يذهب ٩٣٪ من النفط الخام إلى إنتاج الطاقة على الصعيد

العالمي، ويتم استهلاك ٧٪ فقط في الصناعة الكيميائية. وأصبح التأثير المتزايد لسوق الطاقة على سعر المصادر الحيوية المتجددة واضحاً بالفعل. وتدفع زيادة إنتاج الإيثانول الحيوي طلب السوق على مصدره الأولي السكر، مؤديةً إلى علاقة بين السكر والإيثانول، وأسعار النفط. يبين الشكل رقم (٨، ٩)، تطور أسعار السكر بالتوازي مع الإيثانول الحيوي والنفط [٤٠]، وحيث إن تكلفة النفط والسكر مرتبطة بنسبة ٨٥٪، فإن الذرة يتبع ارتفاع تكلفة السكر (http://futures.tradingcharts.com).

الجدول رقم (٢، ٩). حجم إنتاج وأسعار مصادر الكربون الأولية.

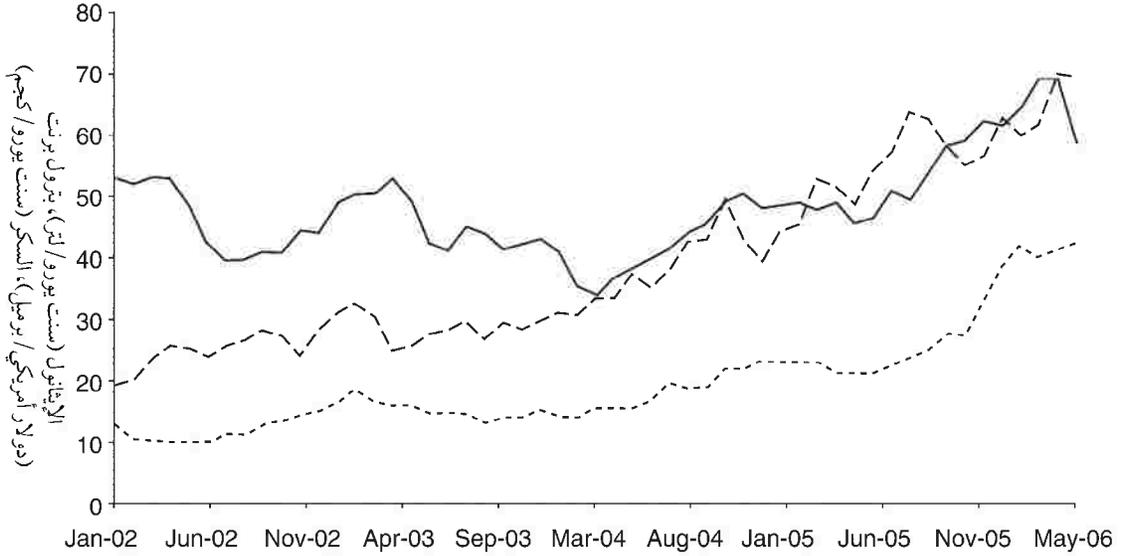
الكربون (يورو/ طن كربون)	الأوكسجين	الهيدروجين	الكربون	السعر (يورو/ طن)	الإنتاج (مليون طن/ عام)	
						البتروكيماويات:
٩١٧		٪١٤	٪٨٦	٧٨٥	١١٠	إيثيلين C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>
٩١٧		٪١٤	٪٨٦	٧٨٥	٧٥	بروبيلين C <sub>3</sub> H <sub>6</sub>
٦٦١		٪٨	٪٩٢	٦١٠	٤٥	بنزين C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>
						المصادر الحيوية المتجددة:
٧٥٠	٪٥٣	٪٧	٪٤٠	٣٠٠	١٤٣	الجلوكوز C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>
٧٠٠	٪٣٥	٪١٣	٪٥٢	٣٦٥	٣٦	الإيثانول الحيوي C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O

وبسبب هذه العلاقات يمكن حساب التكلفة التي سوف تكون عندها المصادر الحيوية المتجددة للنفط والمنتجات القائمة عليها قادرة على المنافسة. ونظراً لاختلاف محتوى الطاقة المختلف لها (البنزين ٣٢ جول متري/ لتر؛ الإيثانول ٢١ جول متري/ لتر) فإن مكافئ الطاقة القائم على البنزين يكون عند ٧٠ دولاراً أمريكياً/ برميل النفط أو ٤٠٠ يورو/ طن الإيثانول. ويحد هذا مع سيادة اقتصاديات عملية الإيثانول الحيوي اليوم من التكلفة القصوى للكربون لإنتاج الإيثانول الحيوي إلى ٢٣٨ يورو/ طن [٤١].

هل البوليمرات القائمة على التقنية الحيوية مثل PLA منافسة في أسواق المصادر الأولية كما وصف؟ بناءً على البيانات المنشورة على اقتصاديات عملية الـ PLA، يكون العائد من مونومر حمض اللاكتيك ٩٠٪، والعائد من البلمرة يكون ٨٠٪. وتكون حوالي ٤٠-٥٠٪ من تكلفة السلع والخدمات الكلية مرتبطة بـ حمض اللاكتيك، وحوالي ٣٠٪ مرتبطة بـ سكر مصدر الكربون [٤٢، ٤٣].

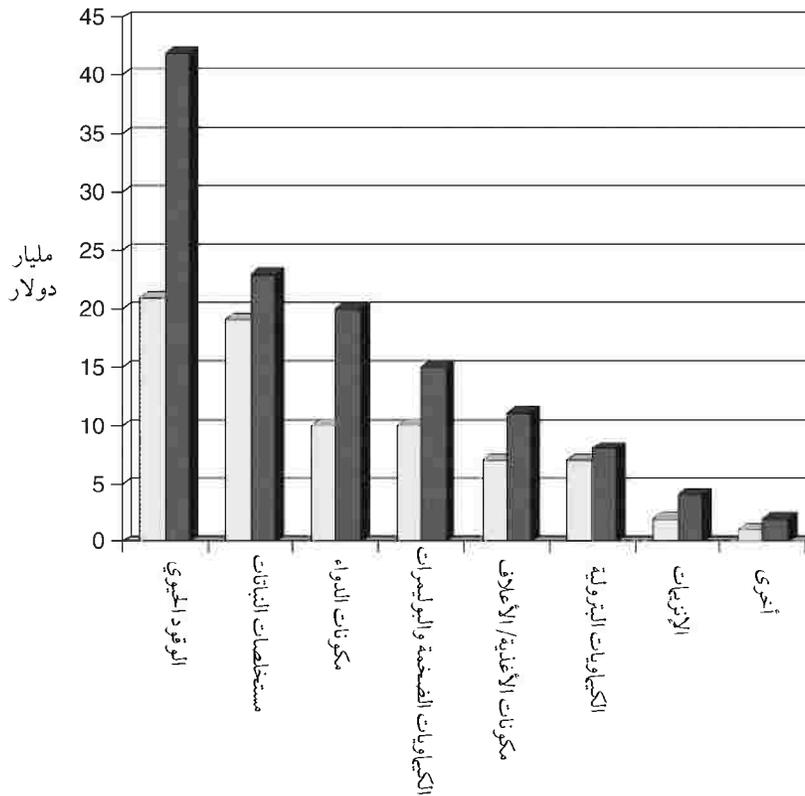
بدءاً من هذه البيانات مع بيانات السوق العامة فإنه يمكن تقدير ربحية السكر المحدودة بالتكلفة: عند سعر مبيعات حول ١١٠٠ يورو/ طن PLA يجب أن لا يتجاوز سعر السكر ٢١٠ يورو/ طن، وهذا هو أقل قليلاً من

سعر السوق الحالي [٤١]. ولكن ثمن البولييمر البتروكيمياوي المنافس PET يكون في نفس المدى، مما لا يعطي PLA أي ميزة في التكلفة على البتروكيمياء.



الشكل رقم (٨، ٩). تطور أسعار النفط، والإيثانول والسكر، يناير ٢٠٠٢م إلى مايو ٢٠٠٦م. الخط الصلب، الإيثانول؛ الخط المنقطع، النفط؛ الخط المنقط، السكر. تكلفة الإيثانول في أوروبا اعتماداً على الإيثانول المجفف المنتج في البرازيل، بالإضافة إلى النقل (٤٥ يورو/ متر مكعب) ورسوم الاتحاد الأوروبي الجمركية (١٩٢ يورو/ متر مكعب).

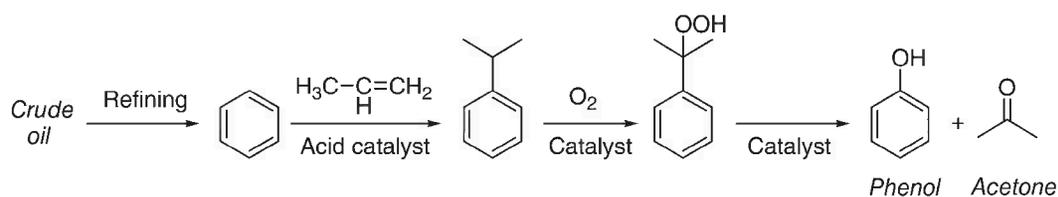
بسبب عدم وجود فوائد تكلفة حقيقية، فقد ترسخت التقنية الحيوية الصناعية حتى الآن فقط في تلك المجالات التي تكون فيها الخيار التقني الوحيد، وتم ذكر أمثلة مثيرة للإعجاب. على الرغم من أن المستقبل يكون دائماً مختلف عن ذلك المتوقع ويمكن أيضاً أن يعتمد على الاكتشافات الجديدة التي يمكن أن تغير تماماً ظروف معالم السوق، فمن المثير للاهتمام ملاحظة أن ماكينزي قدر حجم إجمالي مبيعات التقنية الحيوية الصناعية لتكون ٧٧ مليار دولار أمريكي في عام ٢٠٠٦م، كما هو موضح في الشكل رقم (٩، ٩) [٤٩]. ويمثل حجم المبيعات هذا شرفة ضيقة فقط لحوالي ٥٪ عند النظر إلى الصناعة ككل. ولذلك ينبغي أن يوضع في الاعتبار أنه قد يتم استبدال المنتجات المستمدة من الحفريات بنفس المنتجات القائمة على الصناعة الحيوية: فهناك حاجة لمركب جديد ذي أداء أفضل من المنتج المستمد من الحفريات! وعليه يكون تحسن أداء أو وظيفة المنتج النهائي، ومصانع التقنية الفريدة من نوعها وتحسينات الصحة والسلامة والبيئة هي المبررات الاقتصادية للاستثمارات في مجال التقنية الحيوية الصناعية.



الشكل رقم (٩, ٩). قطاعات السوق للتقنية الحيوية الصناعية في ٢٠٠٥م (الفتاح) وفي ٢٠١٠م (الداكن).

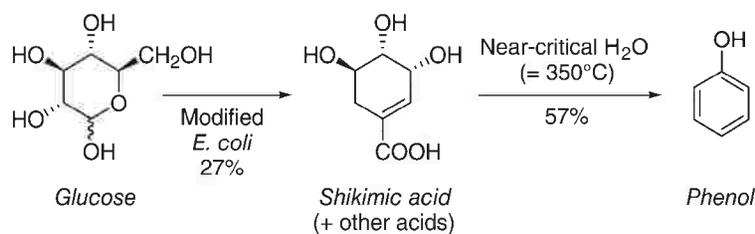
على الرغم من العلاقات المتبادلة المعقدة والمتغيرة بين المواد الخام وأسواق المنتجات، فإنه من المهم أن تترك التقنية الحيوية الصناعية شرفتها ذات حجم مبيعات ٥٪ في الصناعة الكيميائية. وهذا في رأينا هو التحدي الأكبر وله في الوقت نفسه احتمالية مفاجئة مماثلة للتحويلات الاقتصادية أو التقنية. وسوف يحدث هذا فقط إذا وفرت التقنية الحيوية عمليات تنافسية إلى الكيمياء الضخمة. يتم إنتاج عدة ملايين من الأطنان من المواد الكيميائية الضخمة كل عام وإحلال العمليات الحيوية النظيفة محل هذه العمليات ليس مهمة سهلة. وقد أظهر استبدال العملية الكيميائية للأكريلاميد كيف يمكن أن تكون مساهمة التقنية الحيوية الصناعية قوية على المستوى الواسع جداً، ولكن لا تزال المادة الأولية هناك (الأكريلونيتريل) مشتقة من الحفريات. وبالتأكيد فإن المزيد من التركيز على البحوث في اتجاه الطرق المعتمدة على الصناعة الحيوية "الخضراء" لإنتاج المواد الكيميائية الضخمة يكون مطلوباً. وقد تعطي التحسينات المهمة في المصادر الأولية الحيوية (على سبيل المثال، مصادر الكربون اللجنوسيلولوزية)، والمحفزات والعمليات الحيوية دفعاً أخرى للتقنية الحيوية الصناعية. ويتناول المثال الوارد أدناه (نظري جزئياً) إنتاج الفينول.

الفينول هو سلعة حقيقية، ينتج بمعدل ٩, ٨ مليون طن سنوياً وزيادة سنوية قدرها ٦٪. ويستخدم كوحدة بناءية لراتنجات الفينول وكإداة بادئة للأدوية مثل الأسبرين. وعلى الرغم من أن الفينول يمكن الحصول عليه من قطران الفحم، إلا أن أسلوب الإنتاج الأكثر أهمية يعتمد على البنزين المشتق من الحفريات ومعطى في المخطط رقم (٩, ١٥). في الخطوة الأولى، يتفاعل البنزين مع البروين بفعل حفاز حمضي منتجاً الكيومين. ويتم أكسدة هذا الأخير حفزياً وبعد ذلك يتحلل فوق الأكسيد منتجاً الفينول والأسيتون، والذي يباع كمنتج مزدوج. وهناك خوف أن يزيد سوق الفينول كثيراً بحيث يكون هناك فائض كبير من الأسيتون والذي سوف يؤثر في اقتصاديات العملية برمتها.



المخطط رقم (٩, ١٥). عملية الإنتاج الحالية للفينول.

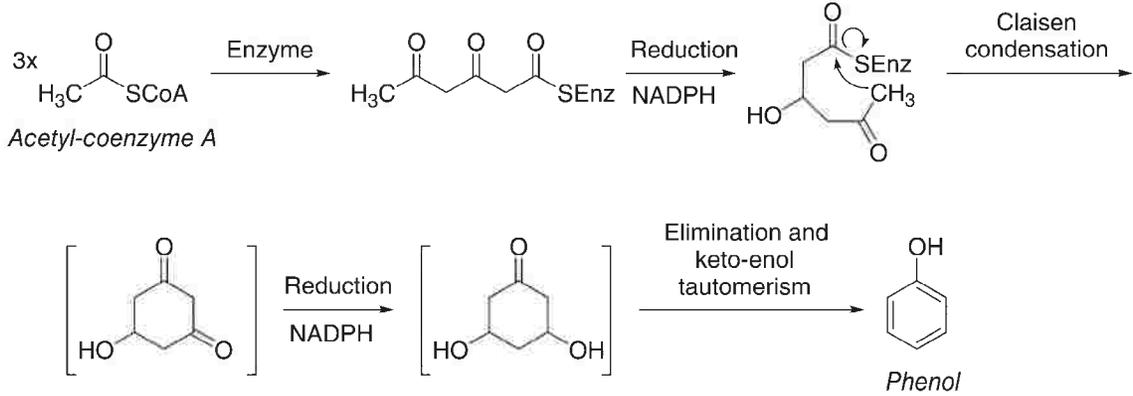
وقد ابتكرت مجموعة جون فروست في جامعة ولاية ميتشيجان عملية للفينول من المواد الأولية الحيوية (المخطط رقم ١٦, ٩) [٤٦]. لقد استنسخوا المسار الكيميائي الحيوي لتحويل الجلوكوز إلى حمض الشيكيميك في إيشيريشيا القولون، وحصلوا على عائد ٢٧٪ من الشيكيمات (على الأساس المولي) بواسطة هذه السلالة المعدلة. وتم تحويل الشيكيمات بعد ذلك إلى الفينول في خطوة واحدة باستخدام المياه القريبة من الحالة الحرجة وبعائد ٥٧٪. وللأسف فالخطوة الثانية هي كثيفة الطاقة، شاملة التسخين إلى ٣٥٠ درجة مئوية ومعدات ضغط عالي، ولكن إذا كان تجنب هذا ممكناً فقد تصبح هذه العملية أنيقة جداً وذات كفاءة.



المخطط رقم (٩, ١٦). طريقة فروست للفينول.

باتخاذ نهج مجموعة فروست خطوةً أخرى إلى الأمام، يمكن للمرء حتى تشييد مسار تخليق حيوي كامل للفينول. ويظهر المسار النظري المعتمد على التخليق الحيوي للبولي كيتيدات في المخطط رقم (٩, ١٧). والمركبات

الفينولية وفيرة في المملكة النباتية بحيث يتوقع الشخص أن مثل هذه البطارية من الإنزيمات يمكن العثور عليها في مكانٍ ما في النباتات أو يمكن تعديلها بطريقةٍ ما تجعلها تؤدي التفاعل المرغوب بشكلٍ انتقائي.



والتحدي الحقيقي، مع ذلك ليس إنتاج الفينول في هذا المسار أو أي مسار بيوكيميائي آخر، ولكن إنتاج الفينول على مستوى عديد المليون طن بتكلفة، دعنا نقول، واحد يورو للكيلوجرام. هذا يعني أننا في حاجة لكائنات حية دقيقة ذات إنتاجية عالية للغاية، جنباً إلى جنبٍ مع الثبات العالي وتحمل هذا المنتج السام جداً. كما أننا أيضاً بحاجة لتقنيات تجهيز نهائي ممتازة للحصول على الفينول بكفاءة من التيار المائي المتدفق (ليس مخففاً جداً!). وسوف يكون هذا هو التحدي الحقيقي في العقود القادمة.

من أجل الانتهاء: فقد تم ذكر [٤١] أنه يمكن تحليل الكتلة الحيوية حرارياً واستخدام النفط الناتج الذي يحتوي على الكثير من الفينولات، كمادة مضافة للفينول "الحقيقي" في إنتاج راتنجات الفينول-فورمالدهيد. ويقلل عدم وجود مرحلة التنقية من الطاقة اللازمة، ويمكن استخدام الغازات والفحم الناتج أيضاً كوقود لتسخين الكتلة الحيوية. ويزعم وجود وفورات في التكاليف تصل إلى ٢٥٪.

وعندما نستنبط مسارات جديدة للمواد الكيميائية الضخمة، يجب علينا أن ننظر بعناية في المواد البادئة المستخدمة. بصفة خاصة، تحتوي الكثير من المواد الكيميائية الضخمة المهمة (كابرولاكتام، والأكريلاميد، والبيريدين، وما إلى ذلك) على ذرة واحدة أو أكثر من النيتروجين. ويعد تحويل النيتروجين الجزيئي إلى أمونيا، وهي المادة الخام لجميع المركبات المحتوية على النيتروجين في الصناعة الكيميائية (البتروكيميائية) هو تفاعل كثيف الطاقة للغاية. وعلى العكس، تحتوي الكتلة الحيوية على الكثير من النيتروجين الذي تم تثبيته من قبل الطبيعة في شكل الأحماض الأمينية، والبروتينات، والأحماض النووية. وتشكل البروتينات خاصة نسبة كبيرة من الكتلة الحيوية

ويمكن عزلها بسهولة وسيكون من المهم جداً النظر في تركيبها (الأحماض الأمينية) كمادة أولية للإنتاج الحيوي للكليوبات الضخمة المحتوية على النيتروجين [٤٧].

في الختام، تعد وجهات النظر للتقنية الحيوية الصناعية في الصناعات الكيميائية والدوائية وللشراكة المعنية لعلوم الأحياء، والكيمياء، والهندسة ممتازة اليوم وتكمل تقليداً ناجحاً من التفاعلات في القرن الماضي التي أدت إلى مساهماتٍ هائلة لنوعية الحياة البشرية [٤٤].

#### شكر وتقدير Acknowledgments

نود أن نشكر جميع علماء الصناعة الذين كانوا على استعداد لمشاركتنا بالمعلومات عن الكثير من العمليات المذكورة في هذا الفصل. ونحن مدينون على وجه الخصوص للدكتور جالت هويسمان (كوديكسيس)، والدكتور روبرت هولت (NPIL الصيدلانية)، والأستاذ الدكتور بروجينك.

#### المراجع References

- Bruggink, A. (ed.) (2001) *Synthesis of  $\beta$ -Lactam Antibiotics, Chemistry, Biocatalysis and Process Integration*, Kluwer Academic, Dordrecht. [١]
- Wegman, M.A., Janssen, M.H.A., van Rantwijk, F., and Sheldon, R.A. (2001) Towards biocatalytic synthesis of  $\beta$ -lactam antibiotics. *Adv. Synth. Catal.*, **343**, 559–576. [٢]
- Sonke, T., Kaptein, B., Boesten, W.H.J., Broxterman, Q.B., Schoemaker, H.E., Kamphuis, J., Formaggio, F., Toniolo, C., and Rutjes, F.P.J.T. (2000) Aminoamidase-catalyzed preparation and further transformations of enantiopure  $\alpha$ -hydrogen- and  $\alpha$ ,  $\alpha$ -disubstituted  $\alpha$ -amino acids, in *Stereoselective Biocatalysis* (ed. R.N. Patel), Marcel Dekker, New York, pp. 23–58. [٣]
- Bruggink, A., and Nossin, P. (2006) Assessment of bio-based pharmaceuticals; the cephalexin case, in *Renewables-Based Technology; Sustainability Assessment* (eds J. Dewulf and H. van Langenhove), John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, pp. 315–329. [٤]
- DSM Anti-Infectives (2004). DSMPure-Actives™, A new standard in antibiotics. DSM Press Conference, Conference on Pharmaceutical Ingredients (CPhI), Brussels, 7 December. (see also [www.dsm.com/en\\_US/html/dai/DSMPureActivesIntroduction.htm](http://www.dsm.com/en_US/html/dai/DSMPureActivesIntroduction.htm), accessed 1–9–2007). [٥]
- Blaser, H.U. and Schmidt, E. (eds) (2004) *Asymmetric Catalysis on Industrial Scale—Challenges, Approaches and Solutions*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim. [٦]
- Liese, A., Seelbach, K., and Wandrey, C. (2006) *Industrial Biotransformations*, 2nd edn, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim. [٧]
- Alphand, V., Carrea, G., Furstoss, R., Woodley, J.M., and Wohlgemuth, R. (2003) Towards large-scale synthetic applications of Baeyer–Villiger monooxygenases. *Trends Biotechnol.*, **21**, 318–323. [٨]
- Hilker, I., Alphand, V., Wohlgemuth, R., and Furstoss, R. (2004) Microbial transformations 56. Preparative scale asymmetric Baeyer–Villiger oxidation using a highly productive “two-in-one” in situ SFPR concept. *Adv. Synth. Catal.*, **346**, 203–214. [٩]
- Hilker, I., Wohlgemuth, R., Alphand, V., and Furstoss, R. (2005) Microbial transformations 59: first kilogram scale asymmetric microbial baeyer–villager oxidation with optimized productivity using a resin-based in situ SFPR strategy. *Biotechnol. Bioeng.*, **92**, 702–710. [١٠]
- Wohlgemuth, R. (2007) Interfacing biocatalysis and organic synthesis. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **82**, 1055–1062. [١١]

- Shapiro, R., DiCosimo, R., Hennessey, S.M., Stieglitz, B., Campopiano, O., and Chiang, G.C. (2001) Discovery and development of a manufacturing-scale synthesis of azafenidin. *Org. Proc. Res. Devel.*, **5**, 593–598. [١٢]
- DiCosimo, R., Hann, E.C., Eisenberg, A., Fager, S.K., Perkins, N.E., Gallagher, F.G., Cooper, S.M., Gavagan, J.E., Stieglitz, B., and Hennessey, S.M. (2000) Biocatalytic production of 5-cyanovaleramide from adiponitrile. *ACS Symp. Ser.*, **767**, 114–125. [١٣]
- Hann, E.C., Eisenberg, A., Fager, S.K., Perkins, N.E., Gallagher, F.G., Cooper, S.M., Gavagan, J.E., Stieglitz, B., Hennessey, S.M., and DiCosimo, R. (1999) 5-Cyanovaleramide production using immobilized *Pseudomonas chlororaphis* B23. *Bioorg. Med. Chem.*, **7**, 2239–2245. [١٤]
- DiCosimo, R., Stieglitz, B., and Fallon, R.D. (1998) Production of  $\omega$ -cyano-carboxamides from aliphatic  $\alpha$ ,  $\omega$ -dinitriles using *Pseudomonas putida*-derived biocatalysts. US Patent 5,728,556. [١٥]
- Nakamura, C.E. and Whited, G.M. (2003) Metabolic engineering for the microbial production of 1,3-propanediol. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **14**, 454–459. [١٦]
- Gross, R.A., Kumar, A., and Kalra, B. (2001) Polymer synthesis by *in vitro* enzyme catalysis. *Chem. Rev.*, **101**, 2097–2124. [١٧]
- Duxbury, C.J., Wang, W., de Geus, M., Heise, A., and Howdle, S.M. (2005) Can block copolymers be synthesized by a single-step chemoenzymatic route in supercritical carbon dioxide? *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 2384–2385. [١٨]
- Hilker, I., Rabani, G., Verzijl, G.K.M., Palmans, A.R.A., and Heise, A. (2006) Chiral polyesters by dynamic kinetic resolution polymerization. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 2130–2132. [١٩]
- Davis, S.C., Grate, J., Gray, D.R., Gruber, J.M., Huisman, G.W., Ma, S.K., Newman, L.M., Sheldon, R.A., and Wang, L.A. (2006) Enzymatic processes for the production of 4-substituted 3-hydroxybutyric acid derivatives and vicinal cyano, hydroxy substituted carboxylic acid esters. US Patent 7,132,267. [٢٠]
- Fox, R.J., Davis, S.C., Mundorff, E.C., Newman, L.M., Gavrilovic, V., Ma, S.K., Chung, L.M., Ching, C., Tam, S., Muley, S., Grate, J., Gruber, J., Whitman, J.C., Sheldon, R.A., and Huisman, G.W. (2007) Improving catalytic function by ProSAR-driven enzyme evolution. *Nat. Biotechnol.*, **25**, 338–344. [٢١]
- Matsuda, H., Shibata, T., Hashimoto, H., and Kitai, M. (1999) Method for producing (*R*)-4-cyano-3-hydroxybutyric acid lower alkyl ester. US Patent 5,908,953. [٢٢]
- DeSantis, G., Chaplin, J.A., Weiner, D.P., Milan, A., Chi, E., Short, J.M., Madden, M.D., and Burk, M.J. (2003) Nitrilases. Intl. Publ. No. WO 03/000840. [٢٣]
- DeSantis, G., Zhu, Z., Greenberg, W.A., Wong, K., Chaplin, J., Hanson, S.R., Farwell, B., Nicholson, L.W., Rand, C.L., Weiner, D.P., Robertson, D.E., and Burk, M.J. (2002) An enzyme library approach to biocatalysis: development of nitrilases for enantioselective production of carboxylic acid derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 9024–9025. [٢٤]
- DeSantis, G., Wong, K., Farwell, B., Chatman, K., Zhu, Z., Tomlinson, G., Huang, H., Tan, X., Bibbs, L., Chen, P., Kretz, K., and Burk, M.J. (2003) Creation of a productive, highly enantioselective nitrilase through gene site saturation mutagenesis (GSSM). *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 11476–11477. [٢٥]
- Holt, R.A., Blacker, A.J., and Reeve, C.D. (2003) Process for the preparation of dihydroxy esters and derivatives thereof. EP 1 282 719. [٢٦]
- DECHEMA (2006) White biotechnology: An opportunity for Germany, a position paper released by DECHEMA (German Society for Chemical Engineering and Biotechnology). [٢٧]
- Bommarius, A.S., Schwarm, M., and Drauz, K. (1998) Biocatalysis to amino acid-based chiral pharmaceuticals—examples and perspectives. *J. Mol. Catal. B Enzyme*, **5**, 1–11. [٢٨]
- Tomlin, C.D.S. (ed.) (2003) *The Pesticide Manual*, British Crop Protection Council (BCPC), Alton, Hampshire. [٢٩]
- Hermes, H.F.M., Sonke, T., Peters, P.J.H., van Balken, J.A.M., Kamphuis, J., Dijkhuizen, L., and Meijer, E.M. (1993) Purification and characterization of an L-aminopeptidase from *Pseudomonas putida* ATCC12633. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 4330–4334. [٣٠]
- Hermes, H.F.M., Tandler, R.F., Sonke, T., Dijkhuizen, L., and Meijer, E.M. (1994) Purification and characterization of an L-amino amidase from *Mycobacterium neoaurum* ATCC25795. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 153–159. [٣١]

- Sonke, T., Ernste, S., Tandler, R.F., Kaptein, B., Peeters, W.P.H., van Assema, F.B.J., Wubbolts, M.G., and Schoemaker, H.E. (2005) L-Selective amidase with extremely broad substrate specificity from *Ochrobactrum anthropi* NCIMB 40321. *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 7961–7973. [٣٢]
- van den Tweel, W.J.J., van Dooren, T.J.G., de Jonge, P.H., Kaptein, B., Duchateau, A.L.L., and Kamphuis, J. (1993) *Ochrobactrum anthropi* NCIMB 40321: a new biocatalyst with broad-spectrum L-specific amidase activity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **39**, 296–300. [٣٣]
- Cheetham, P.S.J. (1994) Case studies in applied biocatalysis—from ideas to products, in *Applied Biocatalysis* (eds J.M.S. Cabral, D. Best, L. Boross, and J. Tramper), Harwood Academic Publishers, Chur, Switzerland, pp. 47–108. [٣٤]
- Karlsson, A., Parales, J.V., Parales, R.E., Gibson, D.T., Eklund, H., and Ramaswamy, S. (2003) Crystal structure of naphthalene dioxygenase: side-on binding of dioxygen to iron. *Science*, **299**, 1039–1042. [٣٥]
- Wohlgemuth, R. (2007) Modular and scalable biocatalytic tools for practical safety, health and environmental improvements in the production of speciality chemicals. *Biocatal. Biotransform.*, **25**, 178–185. [٣٦]
- Alcalde, M., Ferrer, M., Plou, F.J., and Ballesteros, A. (2006) Environmental biocatalysis: from remediation with enzymes to novel green processes. *Trends Biotechnol.*, **24**, 281–287. [٣٧]
- Wohlgemuth, R. (2006) Tools for selective enzyme reaction steps in the synthesis of laboratory chemicals. *Eng. Life Sci.*, **6**, 1–8. [٣٨]
- Kunststoff Information (2007) [www.kiweb.de](http://www.kiweb.de) [www.tecson.de](http://www.tecson.de) (accessed 1–9–2007). [٣٩]
- Crop Energies AG (2006) *Wertpapierprospekt*, Mannheim (<http://www.helaba.de/de/Unternehmen/GlobalMarkets/Aktienemissionen/ArchivIPO/CropEnergies.html>, accessed 1–9–2007) [٤٠]
- Nordhoff, S., Höcker, H., and Gebhardt, H. (2007) Nachwachsende Rohstoffe in der chemischen Industrie—Weg vom Öl? *Chemie Ingenieur Technik*, **79**, 551–560. [٤١]
- Wolf, O. (ed.) (2005) Technoeconomic feasibility of large-scale production of bio-based polymers in Europe. Technical Report EUR22103EN, European Communities, Brussels. [٤٢]
- SRI Consulting (2005) Process Economics Program Report, 257. Menlo Park, CA. [٤٣]
- Todd, A. (ed.) (1956) *Perspectives in Organic Chemistry*, Interscience Publishers Inc., New York. [٤٤]
- Wong, C.-H., Garcia-Junceda, E., Chen, L., Blanco, O., Gijsen, H.J.M., and Steensma, D.H. (1995) Recombinant 2-deoxyribose-5-phosphate aldolase in organic synthesis: use of sequential two-substrate and three-substrate aldol reactions. *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 3333–3339. [٤٥]
- Gibson, J.M., Thomas, P.S., Thomas, J.D., Barker, J.L., Chandran, S.S., Harrup, M.K., Draths, K.M., and Frost, J.W. (2001) Benzene-free synthesis of phenol. *Angew. Chem. Intl. Ed.*, **40**, 1945–1948. [٤٦]
- Scott, E., Peter, F., and Sanders, J. (2007) Biomass in the manufacture of industrial products—the use of proteins and amino acids. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **75**, 751–762. [٤٧]
- Riese J. (2006) Industrial biotechnology—turning potential into profits, in *BIO World Congress 07/13/2006* Toronto. [٤٨]
- Winters, P. (2006) McKinsey & Company at World Congress, in *BIO press release 07/13/2006*. [٤٩]