

الباب السادس

هندسة المورثات والهندسة الحيوية

أسس هندسة المورثات

تتألف المادة الوراثية في كل الكائنات الحية تقريباً من الجراثيم (البكتيريا) البسيطة حتى الإنسان من شريط مضاعف من الحمض الريبسي النووي المنزوع الأوكسجين (deoxyribonucleic acid: DNA) مقسم إلى مقاطع تدعى المورثات. وهي المسؤولة عن تكوين إحدى الصفات عن طريق إنتاج أحد البروتينات (الزلال) كما هو الأمر في معظم الأحيان. ويتم تحول المورثة إلى البروتين المرّمز من قبلها في جميع الأحياء على مرحلتين؛ أولاًهما الانتقال (Transkription) إلى حمض ريبسي نووي رسول mRNA (Messenger Ribonucleic acid) وثانيهما ترجمة (Translation) الـ RNA الرسول إلى البروتين المناسب (الشكل ١). وهذه الخاصة المشتركة بين جميع الكائنات الحية هي التي جعلت هندسة المورثات ممكنة.

تهدف جميع فعاليات الهندسة الوراثية إلى التغيير الموجه للمادة الوراثية وإلى إقحام مواد وراثية مركّبة جديدة (مجددة التركيب) إلى الخلايا الحية لتؤثر فيها من خلال إدخال المعلومات الوراثية المطلوبة، تكتسب هذه الخلايا المضيفة القدرة على إنتاج مواد بروتينية، لم تكن لتنتجها في الأحوال العادية، تستخدم الخلايا المضيفة إما كنّالات نسخ للـ DNA المجدّد وإمّا كمصانع لإنتاج البروتينات التي ستنتقل مورثاتها.

2 ميلاد هندسة المورثات

في عام ١٩٧٣ اكتشف ستانلي كوهين ما يسمّى بالبلاسميد (Plasmide) في أعماله التي أعاد فيها تركيب الـ DNA بالتعاون مع هيربرت بويل. هذه الحلقات الصغيرة من الـ DNA توجد في البكتيريا، حيث تعمل كحامل إضافي للمعلومات الوراثية. تستطيع البكتيريا بالاستعانة بالبلاسميدات تفكيك المضادات الحيوية الضارة بها وبذلك تصبح مقاومة لهذه الأدوية. قطع كوهين وبويل بلاسميدين اثنين قادرين على منح صفة المقاومة للبكتيريا ضد مضادّين حيويّين مختلفين، ثم عدّلا

تركيبها في أنبوب اختبار (الشكل ٢) وتم نقل البلاسميد الناتجين إلى البكتريا، التي أصبحت بالنتيجة منيعة تجاه المضادين الحيويين.

تعديل (تغير تركيب) الـ DNA ③

ما تزال الأدوات التي استخدمها كوهين وبويل عام ١٩٧٣ حتى الآن وهي المواد المساعدة الأولى لمهندسي المورثات؛ وهي خمائر التحديد (enzyme restriction) التي بإمكانها تقطيع السلسلة الحاملة للـ DNA المؤلفة من جزيئات السكر وجزيئات حمض الفوسفور عند مواضع محددة تماماً. وتتعرف كل من خمائر التحديد على موضع القطع الخاص بها تبعاً لتسلسل مميز لعناصر البنية في الـ DNA. وتتوفر اليوم بين يدي مهندس المورثات مئات من هذه العوامل المساعدة. تشتق أسماء خمائر التحديد من أسماء البكتريا التي يوجد فيها البروتين الخاص بشكل طبيعي.

من أجل إعادة تركيب الـ DNA يلزم إعادة لصق أطرافه المقصوفة، تقوم بهذه المهمة خمائر الوصل (Ligasen)، التي توجد على شكل خمائر في كل الكائنات الحية، وتعمل على سد الثغرات في السلسلة الحاملة للـ DNA (الشكل ٣). إلى جانب المقصات الدقيقة (Restriktionsenzyme) التي يقص بها مهندس المورثات الـ DNA واللاصق الجزيئي (Ligasen) الذي يساعده على إعادة لصق الأجزاء المقصوفة، فإنه يحتاج إلى متعضيات دقيقة قادرة على إيواء الـ DNA المعاد التركيب، وتكراره بالنسخ. تستخدم لهذه المهمة بكتريا (مثل بكتريا الأمعاء Coli-E) والخمائر (مثل خميرة الجعة) ومزارع الخلايا الحيوانية أو البشرية.

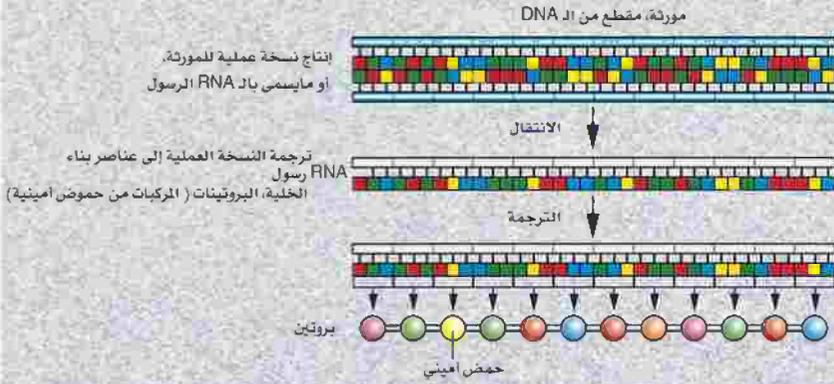
طرق نقل الـ DNA ②

يمكن نقل الـ DNA المعدل إلى مقره المعد خصيصاً له (تحويل الـ DNA) بعدة طرائق. أكثر هذه الطرائق استخداماً مع المتعضيات الدقيقة مثل البكتريا وخلايا الخمائر هي الإنفاذ الكهربائي Elektro poration. حيث تجمع المتعضيات الدقيقة المعالجة مسبقاً مع الـ DNA المعدل في أوعية خاصة ويسلّط عليها تيار كهربائي

عالٍ. تحت تأثير الحقل الكهربائي الناتج تصبح أغشية الخلايا نفوذة للجزيئات الكبيرة، بذلك يستطيع الـ DNA المعدل العبور إلى الخلايا. أما نقل الـ DNA المعدل إلى الخلايا الحيوانية فيتم إلى حدٍ ما بالحقن المباشر في الخلايا.

وبما أنه، ليست جميع الخلايا تستقبل الـ DNA المعدل المحوّل إليها، كان من الضروري أن يتبع عملية التحويل فصل (انتقاء) بين الخلايا المستقبلة وغير المستقبلة (الشكل ٢)، لذلك توضع الخلايا ضمن وسط انتقائي. وغالباً ما تستخدم في عملية الانتقاء هذه مقاومة الخلايا للمضادات الحيوية (Antibiotikaresistenzen) التي تُكتسب من البلازميد المعدل. فقط الخلايا الحاملة للـ DNA المعدل تستطيع تعطيل عمل المضادات الحيوية الموجودة في الوسط الانتقائي وبذلك تنجو. أما الخلايا غير المتحوّلة فتكون حساسة للمضادات الحيوية الموجودة فيقضى عليها.

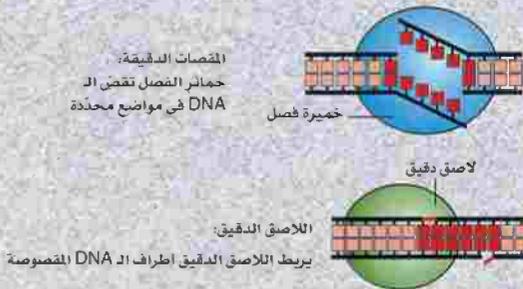
1 تحول معلومات الإرث



2 الـ DNA المعدل



3 أدوات هندسة المورثات



مبادئ الهندسة الوراثية

هندسة المورثات في مجال المواد الغذائية

تقتصر الآن تطبيقات هندسة المورثات في صناعة المواد الغذائية على إنتاج المواد المساعدة في الصناعات الغذائية وتربية النباتات المفيدة ذات الصفات المكتسبة. إذ تحاول التربية الحديثة للنباتات استخدام هندسة المورثات من أجل الحصول على نباتات مقاومة للأمراض والمبيدات (وسائط قتل الحشائش) أو للحصول على أجيال جديدة من النباتات لاستخدامها في الصناعة.

المواد المساعدة في الصناعات الغذائية:

تدخل هذه المواد المساعدة بالإضافة إلى أشياء أخرى في تصنيع المواد الغذائية، فعلى سبيل المثال يدخل أنزيم الكيموزين (Chymosin) كخميرة إنعاش لمساعدة الحليب على التخثر (التجبن) في تصنيع الجبن. يمكن الحصول على الكيموزين بالطرق الطبيعية من أمعاء العجول المذبوحة أو بطرائق الهندسة الوراثية عن طريق الصيغة التخاليفة (← الهندسة الوراثية في الطب). وكلا الإنزيمين متطابقين تماماً. إلى جانب الكيموزين هناك سلسلة من الخمائر الأخرى المصنّعة بطرائق الهندسة الوراثية. مثلاً كالليبازات (Lipasen) التي تستخدم كمادة حائلة للدهن في المنظفات أو مؤكسدات السكر (Glucoseoxidase) في شريط الاختبار المستخدم لمعرفة نسبة السكر في الدم.

تربية النباتات ① ② ③

أما في مجال تربية النباتات الغذائية والمفيدة فإن الدور الذي تؤديه هندسة المورثات يعد بالغ الأهمية، تُجري المحاولات لإكساب أهم النباتات المفيدة صفات جديدة باستخدام هندسة المورثات.

تعد جرثومة التربة واسمها *Agrobacterium tumefaciens* من أهم المواد المساعدة في الهندسة الوراثية الخضراء إذ تستطيع هذه المتعضية الدقيقة نقل جزء من المادة الوراثية يدعى DNA-T إلى خلايا النبات. يولّد هذا الانتقال في النباتات

نمو أورام خبيثة أو ما يسمى بحويصلات عنق الجذر. بدلاً من المورثات المولدة للورم الخبيث هناك مورثات أخرى ذات صفات خاصة يمكن زرعها DNA-T ومن ثم نقلها إلى النبات (الشكل ١). تُعدّ هذه الطريقة فعّالة جداً، لكن تطبيقها غير ممكن في كل النباتات.

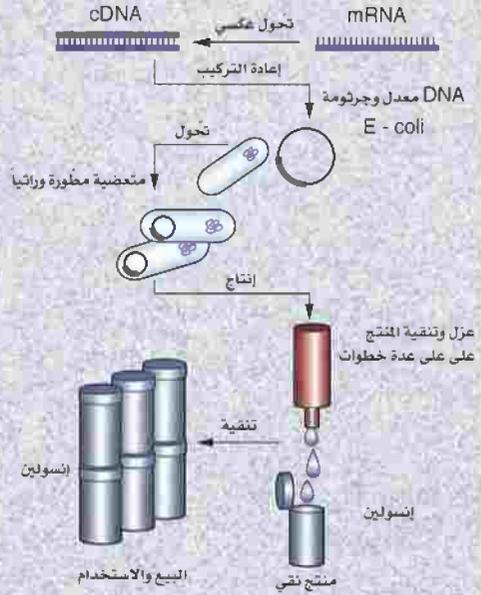
من طرائق نقل الـ DNA أيضاً طريق تحوُّل الخلايا. فيها يتم تحويل خلايا النبات بمعالجتها ببعض الخمائر إلى بروتوبلاست أي خلايا منزوعة الجدران. يتم مزج الأخيرة بالـ DNA المعدّل، حيث يقتحم الخلايا جزءٌ يسير منه، لكن فعالية هذه الطريقة قليلة. وهناك طريقة نقل ثالثة هي طريقة القذف بالـ DNA.

لقد تم إيصال عدد كبير من المورثات إلى النبات باستخدام إحدى الطرائق السابقة، ومنها مثلاً المورثة التي تمنع المقاومة ضد مبيد حشائش عام اسمه التجاري BASTA ويحتوي على الفوسفينوتريزين Phosphinotricine، وهي المادة التي توقف عمل الخميرة البنائية (لاصق الغلوتامين Glutamin synthetase)، مما يعيق عملية تبادل الأزوت في النبات مما يؤدي إلى موته (الشكل ٢). من أجل إكساب النبات مقاومة ضد BASTA يتم تطعيمه بمورثة فوسفينوتريسين ترانس أستيلين (PPT-Transacetylase) المأخوذة من جرثومة التربة. وفي النبات الناتج ذي المورثات المنقولة يتم الآن إنتاج PPT- Transacetylase الجرثومي، الذي يؤدي إلى تغيير الفوسفينوتريسين، فيفقد القدرة على كبح عمل الأنزيم اللاصق للغلوتامين. وتكون النتيجة أن النبات ذا المورثات المعدّلة ينجو برغم استخدام الفوسفينوتريسين. في الولايات المتحدة استخدمت أرضي واسعة لزراعة محاصيل مقاومة للباستامتل فوق الصويا والقطن.

من الأمثلة الأخرى على النباتات ذات المورثات المعدلة الـ savr - Flavr أو البندورة «المقاومة للارتخاء» (الشكل ٣) في هذا النوع من البندورة يتم إدخال مركب الحاسّة المعاكسة Antisens-kontrukt من أجل خميرة بولي غالا كتوروناز Poly (PG galacturonase)، التي تعمل عادة على تحطيم الجدران الحافظة للخلايا في

الثمار الناضجة فتصبح رخوة وغير مقبولة شكلاً. لإيقاف هذه العملية يُعمد إلى تحويل المورثة بالاتجاه المعاكس من حيث عمل الـ PG في الـ DNA لنبات البندورة. إن نقل القرين الوراثي المعاكس للـ PG يؤدي إلى إنتاج mRNA معاكس (أسس هندسة المورثات ←) وهو مكمل للـ mRNA الطبيعي للـ PG. وتكون النتيجة أن يلتصق شريطاً الـ RNA بعضهما، بحيث لا يستطيعا التحول إلى بروتين، لذلك لا يتشكل في البندورة أي PG فعّال وتبقى الثمرة متماسكة حتى في حالة النضوج التام. بالاستعانة بطرائق الهندسة الوراثية تجري المحاولات لجعل نباتات مفيدة هامة (مثل البطاطا والشمندر السكري ونباتات الحبوب) مقاومة للآفات. هدف هذه المحاولات هو منح النباتات المفيدة آليات دفاعية ضد الآفات التي تتعرض لها. ما زال استخدام طرق هندسة المورثات محط جدل. إذ أن تقدير فرص النجاح والأخطار المحيطة بها لا يتم بموضوعية كافية لأن الهندسة الوراثية ما زالت علماً حديثاً نسبياً.

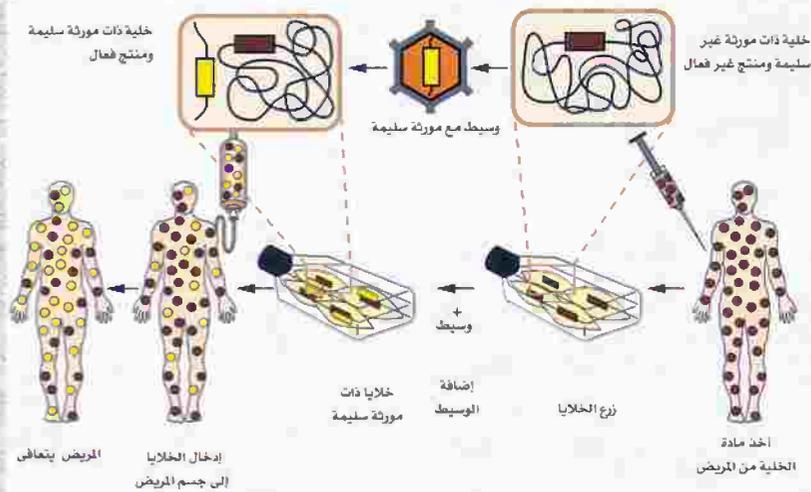
1 منتجات الهندسة الوراثية



2 التشخيص الوراثي بطريقة ساوترن - بلوت



3 مبدأ معالجة الجسم بالمورثات



الهندسة الوراثية في الطب

الهندسة الوراثية في الطب

تعد الهندسة الوراثية في القطاع الطبي وسيلة لا يستغنى عنها، وذلك سواء في إنتاج الأدوية الجديدة كما في التشخيص السهل والسريع للأمراض الوراثية وأمراض العدوى.

تصنيع منتجات الهندسة الوراثية:

تُسَخَّر اليوم منشآت كبيرة من أجل إنتاج سلسلة واسعة من البروتينات الفعالة دوائياً بواسطة المتعضيات الدقيقة المطوّرة وراثياً. يمكن اليوم بواسطة الهندسة الوراثية إنتاج الأنسولين البشري بواسطة الصيغة التخالفية في المتعضيات الدقيقة (الشكل ١). يتم في الخطوة الأولى من هذه العملية المكلفة عزل الـ RNA الرسول (RNA) كأسس الهندسة الوراثية) من الخلايا التي تصنع عادةً الأنسولين. ثم يتحول الـ mRNA كلاً في تحول عكسي reverse Transkription إلى نسخة DNA ذات شريط مضاعف (Copy DNA, CDNA) ستلزم في الخطوات اللاحقة. ثم تزرع نسخة الـ DNA في بلاسميد (← أسس الهندسة الوراثية) حيث تعدل ثم ينقل الـ DNA المعدل المتعضية الدقيقة (جرثومة Coli.E). يتبع ذلك خطوات فصل متعددة من أجل عزل المتعضية الدقيقة التي تحوي نسخة الـ DNA المسؤولة عن الأنسولين البشري، وتوضع هذه النسخ العذرية ضمن وسيط مغذٍ محدد وتبدأ بإنتاج الأنسولين البشري المركب. بعد ذلك يتم عزل الأنسولين عن المتعضية على مراحل ثم ينقى حتى يصبح صالحاً للاستخدام.

التشخيص والمعالجة الوراثية ② ③

يُعد التشخيص الوراثي أحد المجالات التطبيقية الهامة. إن أسباب كثير من الأمراض الوراثية باتت اليوم معروفة بتفاصيلها، ويمكن للمرء بواسطة مسبار الـ DNA (منظار DNA) البحث عن المورثات المفقودة أو المتضررة المسؤولة عن نشوء المرض. أما مسبار الـ DNA فهو قطعة صغيرة من الـ DNA تكون مكملية للمورثة

المبحوث عنها أو تشكل أجزاءً منها. ولإيجاد مسبار الـ DNA بعد ارتباطه يتم تعليمه (لتمييزه) إشعاعياً أو بالفلورة (Fluoreszierend). للاختبارات (الشكل ٢) يتم عزل كمية ضئيلة من الـ DNA تؤخذ من عينة دم أو من السائل المخصب للشخص المختبر ثم يتم تقطيعها إلى مقاطع صغيرة بمساعدة خمائر الفصل (← أسس الهندسة الوراثية). وتُفرز هذه المقاطع حسب حجمها ضمن سائل هلامي معتدل كهربائياً بالاستشهاد الكهر هلامي (Gelelektrophorese) وهي طريقة فصل كيميائية حيوية، ثم يتم فرع شريط الـ DNA المضاعف بالمعالجة الكيميائية إلى شريطين مفردين ثم ينقلان عبر مرشح رابطة للـ DNA (من النتروسيليلوز مثلاً)، وتدعى هذه الطريقة ساوثرن بلوث (Southern-Bloth)، وهكذا يمكن البحث عن خلل في الـ DNA بمساعدة مسابر الـ DNA القادرة على التعرف على سلسلة الـ DNA للمورثة المطلوبة.

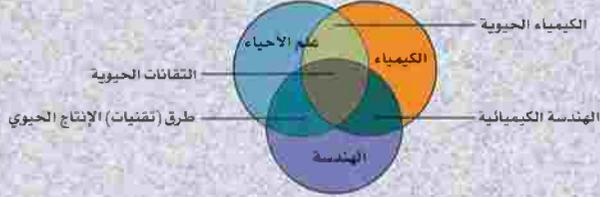
هناك طريقة ثانية تستخدم في التشخيص الوراثي بكثرة، وهي تفاعل مضاعفة (بلمرة) السلاسل (Polymerase chainreaktion) أو PCR. هذه الطريقة تمكن من مضاعفة المورثات المحددة من ضمن مجموع المادة الوراثية. الأمر الذي يحتاج فقط إلى قطعتين قصيرتين من الـ DNA من بداية ونهاية المورثة المطلوبة تدعيان Primer، بالإضافة إلى أنزيم (DNA-Polymerase) القادر على مضاعفة الـ DNA، بحسب اختلافات السلسلة الناتجة بالمضاعفة عن السلسلة المحسوبة PCR يمكن التحقق من حدوث إضافة Insertion (إدخال DNA إضافي إلى المورثة) أو حذف Deletion.

أما معالجة الجسم بالمورثات فتقتصر في الوقت الحاضر على الخلايا التي تزرع خارج الجسم البشري ويمكن نقلها، مثل خلايا الدم البشري. هنا يتم في الخطوة الأولى أخذ الخلايا التي تحمل المورثة المتضررة (الشكل ٣)، وتزرع خارج الجسم، ثم تُنقل نسختها ذات المورثات المصممة بمساعدة وسيط خاص (جزء حمض نووي يعمل كحامل). ويتم إيصال الخلايا المصححة الناتجة إلى المريض بالقطرة الوريدية. عند وصولها إلى الجسم تنتج الخلايا المنقولة البروتين اللازم للمريض.

في المستقبل سيتم التوصل إلى المعالجة عن طريق حقن المورثات السليمة مباشرة إلى الخلايا المتضررة. لذلك وفي حالة مرض السكر مثلاً، يجب إدخال مورثة الأنسولين السليمة مباشرة إلى خلايا لانغرهانس في معتكلة المريض، من أجل أن تؤمن هناك صيغة الهرمون الضروري لحياته بشكل دائم. لكن للأسف لا توجد حتى الآن الوسيلة المناسبة لتحقيق هذا النقل الموجه للمورثات.

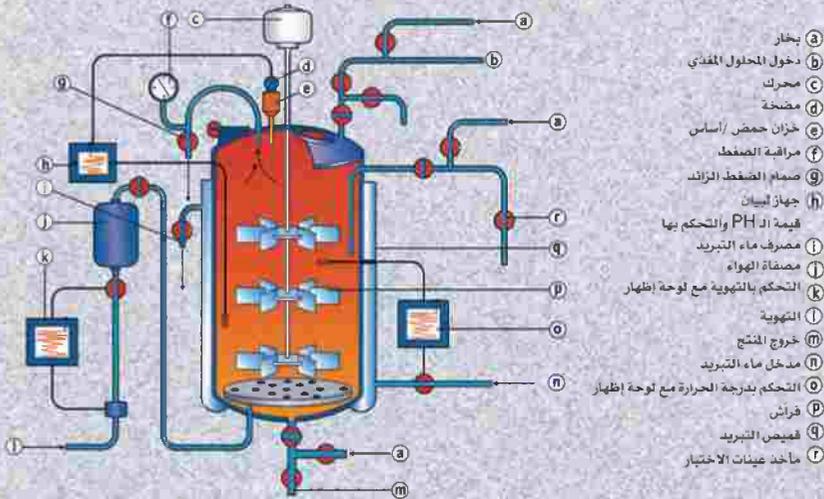
عملياً لا يمكن الآن تصور الطب الحديث دون تطبيقات الهندسة الوراثية. لقد أمكن إنتاج الكثير من البروتينات الضعالة دوائياً من تصنيع أدوية هادفة التأثير. وهناك اختلاف حول استخدام الهندسة الوراثية في تشخيص الأمراض، لأن الهندسة الوراثية مع أنها نجحت في تشخيص كثير من الأمراض، لكنها غير قادرة على تقديم الدواء المناسب.

1 تصنيف طرق الإنتاج الحيوي



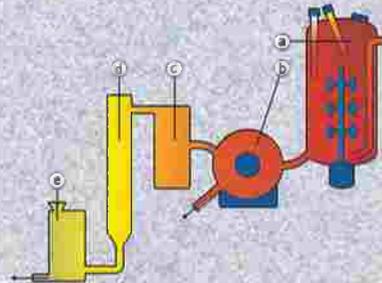
2 بنية مفاعل حيوي يعمل بطريقة التعتبة غير المستمرة

من أجل سير عمليات التحويل دوماً دون أية إعاقة يجب المحافظة على قيمة الـ PH وتركيز الأوكسجين ودرجة الحرارة عند قيمتها ويعمل الخلاط على منع تكثف المتعضيات الدقيقة



3 مراحل عملية تقنية حيوية

(a) مفاعل حيوي، هنا يتم إنتاج المادة المطلوبة من معالجة المنتج، فصل كتلة الجراثيم والخيط، المستنبت وتركيز المستنبت بواسطة طرق مختلفة (مثل القوة الشايبة والاستخلاص والتصفية).



طرق (تقنيات) الإنتاج الحيوي

طرق الإنتاج الحيوي

إن طرق الإنتاج هي أحد فروع العلوم الهندسية التي تعنى بتحويل المواد. وتغطي طيفاً من الفروع يبدأ من أعمال المناجم ومعالجة المواد الخام ماراً عبر الصناعات الكيميائية والصناعات الغذائية وينتهي بتقانات البيئة والصرف بالتعريف التقليدي تقوم هذه العمليات بتحويل المبادئ الفيزيائية والكيميائية إلى عمليات تقنية، وتتناول طرق الإنتاج الحيوي بشكل خاص عمليات التقنيات الحيوية؛ أي التي تعتمد المبادئ الحيوية وتطبّقها وفقاً للمعايير الصناعية (الشكل ١).

التقانات الحيوية والمتعضيات الدقيقة:

تستخدم التقانات الحيوية في مراحلها الحاسمة المتعضيات الدقيقة (كالجراثيم والخمائر والفطور أيضاً). هنا لا يهم إن كانت هذه مطوّرة وراثياً أو أن صفاتها الطبيعية هي التي تستثمر إن تغيرها الوراثي الهادف إلى تحسين صفاتها هو صلب عمل الهندسة الوراثية (←)، التي تعد بدورها فرعاً من فروع التقانات الحيوية.

يسمح استخدام المتعضيات الدقيقة بإجراء التفاعلات الكيمياحيوية تحت الضغط الجوي ودرجة الحرارة الطبيعية. على عكس ذلك تتم عمليات الإنتاج الكيميائية تحت ضغط ودرجة حرارة مرتفعين. هذا بالإضافة إلى المواد الخطرة والسامة التي غالباً ما تستخدم فيها، كالحموض والمحاليل ويؤدي ذلك كله، وبسبب شروط الأمان اللازمة، إلى كلفة تجهيزات عالية. وبالمقابل تعمل المتعضيات الدقيقة ضمن وسط مائي.

2 المفاعلات الحيوية

مهمة تقنيات الإنتاج الحيوي نقل العمليات من الشروط المخبرية إلى شروط إنتاجها صناعياً. وبما أن معدلات استقلاب المواد في المتعضيات الدقيقة ضئيلة بالمقارنة مع الكميات المطلوبة، لذلك يجب تأمين الوسط المثالي المناسب لعدد كبير جداً من هذه المتعضيات، لأن استقلابها الطبيعي هو الذي ينجز التركيب الحيوي

المطلوب. ومن الأمثلة على منشآت التقنيات الحيوية التي تعمل يومياً منذ عشرات السنين هناك المخامر (المفاعلات الحيوية) التي ينتج فيها البيينسيلين من فطور البيينسيلين بكميات غالباً ما تزيد عن ١٠٠ ٠٠٠ لتر.

يتم التحكم في تفاعلات التركيب الكيميائية بواسطة عمليات التحفيز. كذلك يمكن فهم التركيب الحيوي كعملية تحفيز.

ومما لا شك فيه أن التأثير هنا للأنظمة الخمائرية. ويكون عدد الخمائر (الإنزيمات) المشاركة بحسب تعقيد الجزيء المطلوب، كما يتبع لذلك طول سلسلة التفاعلات اللازمة حيث تمارس هذه الخمائر نشاطها ضمن الخلية الحية، أي في الجراثيم.

تجري التفاعلات الكيميائية في الأغلب عند درجات حرارة عالية، لأن المحفزات المستخدمة تكون بالأخص عندئذ فعالة وإذا ابتعدنا عن ذروة نشاطها، فهي تعمل غالباً في كل الظروف لكن بفعالية أقل. أما الخمائر فتختلف عنها: ذروة عملها ضيقة جداً؛ تقع درجة الحرارة المثالية لكثير من المتعضيات الدقيقة بين ٣٠ و٥٠+م. إن انحرافاً بسيطاً عن هذا المجال قد يسبب فشلاً كاملاً للتركيب.

للمتعضيات الدقيقة شروط خاصة نوعاً ما، يتم تأمينها في المخامر Fermenter (الشكل ٢)، التي تدار بطريقتين مختلفتين من حيث المبدأ: في طريقة التعبئة غير المستمرة يجب تعبئة وعاء التفاعل بالمواد الأولية والمتعضيات عند كل وجبة. بعد اكتمال التركيب يصفى الخليط الناتج أثناء تفريره ليؤخذ منه المنتج. لكننا لا نجد عمليات التعبئة والتفريغ هذه في دورة الإنتاج في طريقة العمليات السمترة، التي تعمل في توازن انسيابي، إذ تتساقط المواد الأولية والمنتجات دخولاً وخروجاً بشكل مستمر وتتوافق استطاعة إنتاج لك مركب مع قدرة المعضية المتعلقة به. إن لهذا النمط من العمل فوائد عدة لكن كلفته عموماً عالية. بالإضافة إلى الإمداد بالمواد الغذائية تحتاج مستتبات كثيرة إلى الأوكسجين، كما أن قيمة الـ PH يجب أن تبقى

ثابتة. تزود المفاعلات بأجهزة خلط من أجل تقليب المواد. من جهة أخرى يُعد الأوكسجين مادة سامة في بعض المستتبتات.

لا تتوافق دائماً الشروط المثالية لنمو المتعضية الدقيقة مع الظروف المحيطة بعملية إنتاج المركب المطلوب. وتكاد تكون طريقة العمليات المستمرة هي الطريقة الوحيدة المستخدمة في تنقية مياه الصرف.

تجهيز المنتج ③

ليس المفاعل الحيوي سوى أحد المكونات الهامة في عملية الإنتاج (الشكل ٣). عند اختيار الطريقة المتبعة تؤخذ بالحسبان عمليات تحضير المنتجات المتشكلة في المخمر، فهي يجب أن تُعزل وتُنقى، الأمر الذي يلاقي صعوبة عند بعض المنتجات بسبب عدم استقرارها، إذ أن التبخير والتقطير عمليات غير مجدية في الأغلب، ومن الطرائق التي لا تسبب أضراراً في مثل هذه الحالات طريقة الفصل الغشائي أو طريقة الفصل بالمواد المذيبة.