

تكنولوجيا الصناعات الميكروبية Technology of Microbial Industries

الأستاذة الدكتورة / نادية رفعت عبد الرحمن

رئيس مجلس قسم علوم الأغذية

كلية الزراعة - جامعة عين شمس

مكتبة المعارف الحريثة

٢٢ ش تاج الرؤساء سابقا باشا الإسكندرية

ت: ٥٤٤٥٥٥١ - ٥٨٢٦٩٠٢

تكنولوجيا الصناعات الميكروبية

Technology of Microbial Industries

الاستاذة الدكتورة / نادية رفعت عبد الرحمن

قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة عين شمس

رقم الصفحة

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

رقم الصفحة

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

22 - تكنولوجيا الصناعات الميكروبية :

Technology of Microbial Industries

العصر الحالي يمثل فترة زمنية تمتاز بثورة صناعية تلعب فيها تكنولوجيا الصناعات الميكروبية دوراً رئيسياً سواء من خلال مفهوم الصناعات الميكروبية أو الصناعات التخمرية أو التكنولوجيا الحيوية. وتعتمد هذه التكنولوجيا بصفة أساسية على استخدام الكائن الحي بجميع صوره .

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

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

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

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

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

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

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

22 - 1 تطور الصناعات الميكروبية : Development of microbial industries

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

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

جدول رقم 22 - 1 : المراحل المختلفة لتطور الصناعات الميكروبية

المرحلة الزمنية	المنتج الرئيسي	الأوعية المستخدمة في الإنتاج	طريقة للتربية	البادئ المستخدم
(1) ما قبل 1900	الكحول الفصل	للبراميل الخشبية الأوعية النحاسية	نظام الدفعات	مزارع الخميرة النقية التلقيح بخل جيد
1900(2) - 1940	خميرة الخباز - الجليسيرول حمض الستريك - حمض اللاكتيك - الأميتون - البيوتانول.	أوعية من الصلب غير قابل للصدأ. مزودة بموزع هواء ومقلب ميكانيكي.	نظام الدفعات نظام الدفعات مع تغذية مستمرة.	مزارع نقية
(3) بداية من 1940	للبنسلين - استريثوميسين وغيرها من المضادلات الحيوية - جبريلونات - أحماض أمينية - نيكايوتيدلت - إنزيمات.	أوعية معقمة مزودة بنظام تهوية ميكانيكي - مخمرات معقمة.	نظام الدفعات أو المزارع المستمرة.	مزارع مطهرة وملغخة
(4) بداية من 1960	بروتين وحيد الخلية بإستخدام للهدروكربونات وخامات أخرى.	نظم تخمر تحت ضغط مع التحكم في تبادل الغازات والحرارة وإستخدام الكمبيوتر في التحكم.	مزارع مستمرة مع أعادة تدوير البيئة.	سلالات محسنة بالهندسة الوراثية.
(5) بداية من 1979	المواد غير شائعة الإنتاج والتي لا تلتج بواسطة الميكروبات مثل الأنسولين.	مخمرات من ثلاث أو أربع مراحل مع تحكم الالكتروني للمراحل.	نظام الدفعات مع تغذية مستمرة أو مزارع مستمرة.	إدخال جينات جديدة للميكروب المستخدم بإستخدام الهندسة الوراثية.

المصدر : (1984), Stanbury and Whitaker.

22 - 2 تقسيم الصناعات الميكروبية : Classification of microbial industries

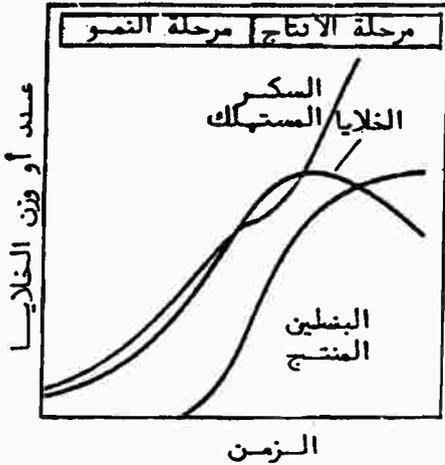
يمكن تقسيم الصناعات الميكروبية أو الصناعات التخمرية بأكثر من طريقة بناء على أسس مختلفة كما يلي:

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

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

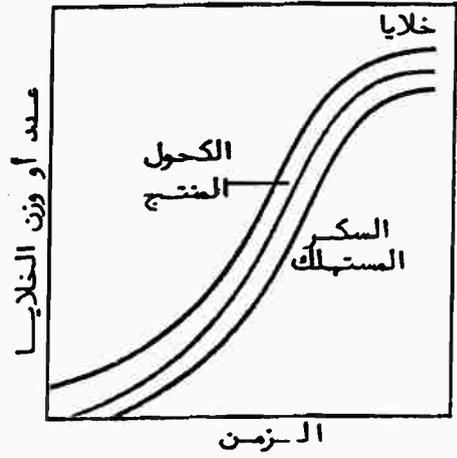
أولاً : منتجات أيض أولية : primary metabolites

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



شكل رقم 22 - 1 : إنتاج البنسلين بواسطة فطر

Penicillium crysogenum (منتج أبيض ثانوي)



شكل رقم 22 - 1 : إنتاج الكحول بواسطة الخميرة

(منتج أبيض أولي)

المصدر : Brock., et. al. (1994)

ثانياً : منتجات أيض ثانوية : Secondary metabolites

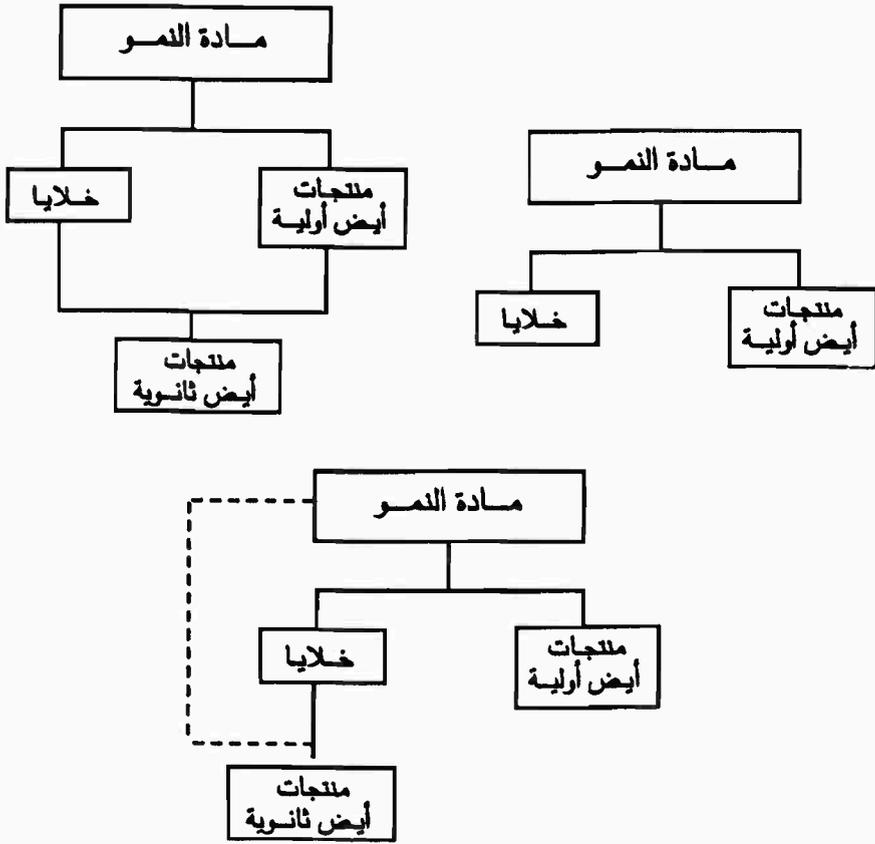
وهذه تضم نواتج الأيض الثانوى التى لا تنتج أثناء مراحل النمو الأولى للميكروب ولكنها تنتج قرب مرحلة الثبات فى منحى نمو الخلايا وهذه مثل المبيدات الحيوية - الجبرلينات - القلويدات، ويضاف لها المضادات الحيوية والتي تعتبر من أهم المنتجات (شكل رقم 22 - 2).

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

- منتجات الأيض الثانوية لا تكونها إلا أنواع معينة من الميكروبات.
- منتجات الأيض الثانوية غير أساسية لنمو وتكاثر الخلايا.
- يعتمد تكوين المنتجات الثانوية على ظروف النمو وبصفة خاصة على تركيب البيئة وقد يحدث أحياناً تثبيط لتكوين هذه المنتجات.
- قد تحول الخلايا منتجات الأيض الأولية بعد تكوينها إلى منتجات ثانوية أو أنها بعد إنتاج المنتجات الأولية تنج لتكوين المنتجات الثانوية من المادة الأولية كما هو موضح فى الشكل رقم 22 - 3 .

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

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



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

المصدر : Brock, et al. (1994).

22 - 2 - 2 نوع الميكروب : Type of microorganism

أولاً: صناعات ميكروبية قائمة على الخمائر:

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

أولاً : مكونات الخلية Cell constituents

ثانياً : المنتجات المفرزة Excretion products

ثالثاً : المركبات المنتجة لفعل إنزيمات الخلية على مواد التفاعل .

وتقسم المجموعة (الأولى) إلى :

الخلية الكاملة الجافة والمستخدمة كمواد مدعمة للغذاء .

اللبيدات والبروتينات والإنزيمات والأحماض النووية .

المركبات المستخلصة مثل المرافقات الإنزيمية والفيتامينات .

منتجات التحلل مثل الأحماض الأمينية والبيورينات والبريميدات .

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

ومن أهم السلالات المستخدمة *Saccharomyces cerevisiae*

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

ثانياً : صناعات ميكروبية قائمة على الأعفان (molds) :

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

الأعفان التي تستخدم في مجال التصنيع تقع تحت الأجناس الآتية:

Aspergillus , *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor*.

ثالثاً : صناعات ميكروبية قائمة على البكتريا :

تلعب البكتريا دوراً كبيراً في مجال الصناعات الميكروبية مثلها مثل الأعفان والخمائر ،

وتقسم البكتريا المستخدمة في الصناعات الميكروبية إلى أربع مجاميع وهي :

1- المجموعة الأولى :

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

2- المجموعة الثانية :

هي تضم ثلاث أجناس هامة في الصناعات الميكروبية.

أ - جنس *Lactococcus (Streptococcus)*

تستخدم سلالات هذا الجنس في صناعات منتجات الألبان مثل الجبن والزيادي والزيد وأهم الأنواع التابعة لهذا الجنس هي :

Lactococcus lactis subsp. lactis. (Streptococcus lactis.)

Lactococcus lactis subsp. cremoris. (Streptococcus cremoris.)

ب - جنس *Leuconostoc*

تتميز أنواع هذا الجنس بأنها غير متجانسة التخمر *hetero fermentative* وتعتبر هامة

جداً في بداية تخمير (تخليل) الخضر وأهم أفراد هذا الجنس هي: *L. paramesenteroides*

L. mesenteroides subsp. dextranicum (L. dextranicum)

L. mesenteroides subsp. cremoris (L. cremoris)

ج - جنس *Pediococcus*

أفراده مترممة توجد على الخضروات المتخمرة واللحوم والبيرة وأهم أنواع هذا

الجنس *Pediococcus acidilactici (P. cerevisiae)*

P. pentosaceus, P. halophilus (Tetragenococcus halophilus (P. halophilus)

3- المجموعة الثالثة :

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

أ - *Homofermentative lactobcillus* .

وأهم الأنواع التابعة له هي :

Lactobacillus delbrueckii subsp. *delbrueckii*.

L. delbrueckii subsp. *Lactis*.

L. delbrueckii subsp. *bulgaricus*.

L. acidophilus , *L. plantarum vairudensis* (*L. plantarum*). *L. casei*.

ب - Heterofermentative Lactobacillus .

وأهم الأنواع التابعة له هي :

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

4- المجموعة الرابعة :

وهي تضم جنس واحد هام في التصنيع الميكروبي وهو جنس *Propionibacterium* وهذا الجنس يضم ثمان أنواع منها أربع أنواع فقط هامة في الصناعات الميكروبية خاصة الألبان ومنتجاتها وهذه الأنواع هي :

Propionibacterium thoenii, *P. jensenii*, *P. acidipropionici*

P. freudenreichii subsp. *freudenreichii*.

22 - 2 - 3 تأثير الأوكسجين :

أولاً : تخمرات هوائية aerobic fermentations

تكون فيها عمليات الهدم مصحوبة باستخدام الأوكسجين الذي يقوم بدور المستقبل النهائي للألكترونات مثل إنتاج حمض الستريك وحمض الخليك وغيرها من المنتجات.

ثانياً : تخمرات لا هوائية anaerobic fermentations

فيها تحل مواد أخرى محل الأوكسجين كمستقبل للألكترونات كما في إنتاج الكحوليات والأسيتون وحمض اللاكتيك وحمض البيروفيك والأدهيدات وغيرها من المنتجات.

22 - 2 - 4 الأهمية التجارية :

- المجموعة التي تنتج خلايا ميكروبية أو كتلة حيوية biomass كمنتج نهائى.
- المجموعة المسؤلة عن إنتاج الإنزيمات الميكروبية microbial enzymes .
- المجموعة المسؤلة عن إنتاج نواتج التمثيل الغذائى microbial metabolites .
- المجموعة التي تقوم بتحويل أو تعديل المركبات المضافة إلى بيئة التخمر إلى مركبات أخرى مطلوبة .

22 - 2 - 5 المنتج النهائى :

- إنتاج كتلة حيوية. Biomass production
- أغذية متخمرة . Fermented foods
- المواد المضافة للأغذية . Food additives
- الإنزيمات الصناعية . Industrial enzymes
- الكيماويات الصناعية . Industrial chemicals
- المنتجات ذات القيمة العلاجية . Health care products

22 - 3 أسس عملية التخمر

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

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

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

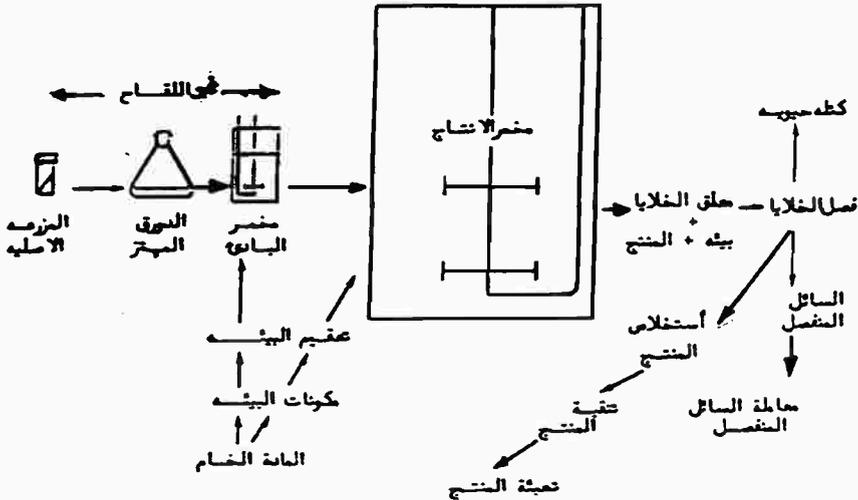
ثالثاً : تعقيم البيئة والمخمر وغيرها من المعدات المتعلقة بالإنتاج.

رابعاً : إنتاج مزرعة نغية نشطة بكمية كافية لإنتاج البادئ اللازم لتلقيح وعاء الإنتاج النهائي.

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

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

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



شكل رقم 22 - 4 : رسم تخطيطى لأسس عملية للتخمير

المصدر : (Stanbury & Whitaker 1984)

22 - 4 نظم المخمرات والمفاعلات الحيوية

Fermentor and bioreactor systems

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

وباستثناء كل من المعالجة الهوائية للمياه فى الصرف الصحى بنظام التدفق المستمر وكذا صناعة الخل وإنتاج الكتلة الحيوية الميكروبية فإن معظم الصناعات الحيوية مازالت تفضل استخدام التشغيل المتقطع (نظام الدفعات batches) وذلك لأسباب تتعلق بشروط الأمان والمرونة.

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

جدول رقم 22 - 2 : التطور التاريخي لأنواع المفاعلات الحيوية واستخداماتها

نوع المفاعل	إستخداماته
- الأوعية اللاهوائية - مفاعلات البيئة السطحية الصلبة.	- إنتاج الكحول والخميرة . - حمض الخليك، حمض الستريك، الإنزيمات التجارية للطعامية .
- الورعاه ذو المقاب والبيئة المغمورة التي تعمل بنظام (السريان المختلط، السريان المستمر، الخلط العكس) .	- أمثله كثيرة للإنزيمات المفروزة خارج الخلية مثل جلوكونز أميلاز أو إنتاج هرمون الأسترويد أو النظم المحملة . - إنتاج الكتلة الحيوية .
- مزرعة البروتين وحيد الخلية (على سبيل المثال: النظم المستمرة، ذات الحجم الإنتاجي الكبير، البرجية أو عالية الكثافة الإنتاجية) .	- إنتاج المشابهات الضوئية للجلوكونز، تعلل البنسلين، الفصل الإختياري للأحماض الأمينية الراسيمية .
- مفاعلات ذات الحشوات للداخلية packed bed (على سبيل المثال: نظم المفاعلات للمحلاة) .	- إنتاج البيرة - الكتلة الحيوية - الخل - منشطات للنمو النباتية .
- الأبراج (الأعمدة) المهواة (مثل المفاعل البرجي، المفاعل المقطب بالهواء) .	- إنتاج المستمر لبيرة وإنتاج السيدر .
- المفاعل ذو الطبقة المرفوعة fluidized bed .	- معالجة مياه الصرف وإنتاج الخل .
- المفاعل ذو الطبقات المغمورة trickled bed .	

المصدر: (1989) Ward .

22 - 4 - 1 المفاعلات الحيوية ذات الحشوات الداخلية :

Packed-bed bioreactors

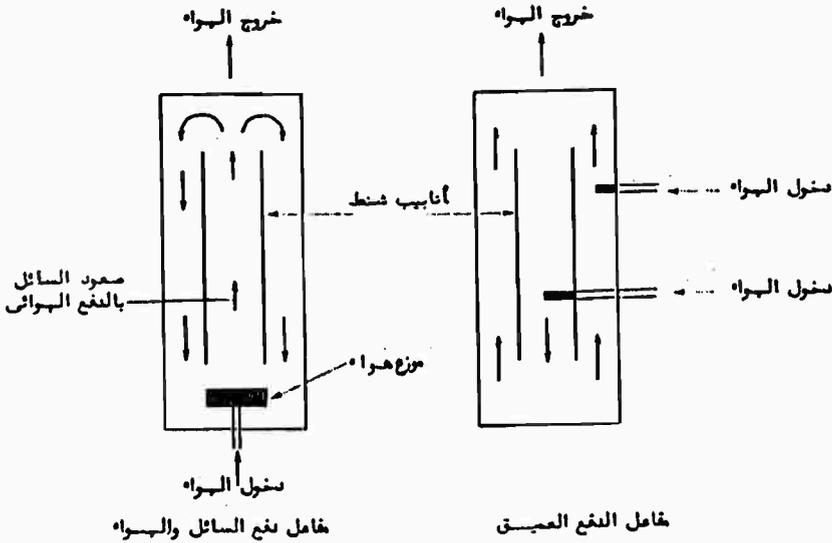
تعمل المفاعلات الحيوية ذات الحشوات الداخلية تحت الضغط للجوى العادى، حيث يتم توزيع البيئة المغذية على الحشوات الداخلية بواسطة وسيلة توزيع ويتكون هذا النوع من المفاعلات من أعمدة (أبراج) يوجد بداخلها جزئيات تعمل كموايد مساعدة محملة وتستخدم حالياً فى عمليات إنتاج المشابهات الضوئية للجلوكونز وعمليات التحلل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

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

المفاعل الحيوى العمودى ذو الفقائيع الهوائية :

bubble - column bioreactors

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



شكل رقم 22 - 5 : نموذج لمفاعلين حيويين

المصدر : Ward (1989) .

يتم دفع الهواء من قاعدة المفاعل بسرعة عالية بواسطة أفراس توزيع مقببة، كما يؤدي وجود المسارات الجانبية المسماء بأنابيب الشفط draught tube إلى دفع السائل لأسفل تحت ظروف اضطرابية لإعادة تدوير مرة أخرى، ولضمان التوزيع الأمثل للأكسجين فإنه يجب أن يكون ارتفاع المفاعل كافياً وأكبر من ارتفاع المفاعلات التقليدية للمقابلة ميكانيكياً (عادة تكون نسبة ارتفاع المفاعل إلى القطر 10 : 1) . وأثناء صعود الفقاعات للهوائية الغازية خلال المفاعل فإن تركيز الأكسجين بها يتناقص مما يؤدي إلى انخفاض معدل أنتقال الأكسجين للبيئة . كما أن هناك نوعاً آخر من هذه المفاعلات أطلق عليه أسم مفاعل الدفع العميق deep Shaft reactor - وصمم للتغلب على مشاكل توزيع الهواء في مفاعل دفع السائل بالهواء السابق حيث أنه يتم دفع الهواء من موضعين (بدلاً من موضع واحد في القاعدة) أحدهما في النصف الأسفل من الأنبوبة الوسطية ويعمل على دفع السائل لأسفل بينما يكون الآخر في النصف العلوي للأنبوبة الجانبية حيث يدفع السائل لأعلى لكي يسقط خلال الأنبوبة الوسطية كما هو موضح في الشكل رقم 22 - 5 .

ويمكن تشغيل كلاً المفاعلين بطريقة التشغيل المستمر، ويكثر استخدامها في الصناعات الكيماوية وفي الصناعات البيولوجية كما أنها تستخدم بكثرة في صناعة للبيرة والخل والبروتين وحيد الخلية.

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

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

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

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

22 - 4 - 4 مفاعلات الإنزيمات أو الخلايا المحملة :

Reactors for immobilized enzymes or cells

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

والأسباب التى تؤدى إلى عمليات التحميل تتلخص فيما يلى :-

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

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

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

إن تكاليف فصل وتنقية الإنزيمات المتكونة داخل الخلايا الميكروبية intracellular enzymes عالية بحيث يصبح استخدامها غير إقتصادي لعمليات الإنتاج التجارية لذلك يجب أن يكون هناك إتران بين تكاليف إنتاج الإنزيمات المعزولة والعتاد الإقتصادي المستفاد منها طبقاً لطبيعة العملية الإنتاجية التي تقوم بها. وتتميز الإنزيمات المعزولة بإرتفاع درجة نقاوتها مما يساعدها على رفع كفاءة عملية التحول التي تساهم فيها هذه الإنزيمات كما أن المنتج النهائي المطلوب يكون أكثر نقاوة وخالي من المواد الغريبة للمصاحبة. ويمكن اللجوء إلى عملية تحميل الخلايا الكاملة عندما يكون الإنزيم المستخلص أقل ثباتاً. وهناك عديد من العمليات الصناعية المستمرة عديدة للتفاعلات الإنزيمية يتم باستخدام نظم تحميل للخلايا الميكروبية الكاملة. وتتميز الخلايا الميكروبية المحملة بإنخفاض درجة نفاذية جدر الخلايا ولكن وجود أنواع عديدة من الإنزيمات داخل الخلية الميكروبية قد يؤدي إلى حدوث تفاعلات جانبية ولكن يمكن التغلب على هذه المشكلة بحيث يستفاد من النظم الإنزيمية الموجودة داخل الخلية الميكروبية بأقصى كفاءة ممكنة.

ويفضل استخدام نظام التحميل بالخلايا الكاملة في الحالات الآتية:-

أولاً: عندما يوجد الإنزيم داخل الخلية ولا يفرز خارجها.

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

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

رابعاً: عندما يكون كل من مادة للتفاعل Substrate والمنتج النهائي مواد ذلت وزن جزئى منخفض.

ويمكن تلخيص أهم مزايا استخدام نظم الخلايا الميكروبية المحملة:

- 1- إعادة استخدام الخلايا مما يسمح باتباع طرق تشغيل مستمرة.
- 2- خفض تكاليف الإنتاج.
- 3- عدم ضرورة إستخلاص الإنزيمات وتلقيتها.
- 4- المحافظة على نشاط الإنزيم وتقليل حساسية الإنزيم للتغيير في ظروف التشغيل.

5- إمكانية استخدام النظم عديدة الإنزيمات التي تحتاج إلى إنزيمات وعوامل مساعدة عديدة.

6- إمكانية استخدامها في عديد من التطبيقات الحيوية والطبية الحديثة.

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

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

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

1- الطريقة التي تكون فيها المادة المساعدة catalyst مرتبطة مع المادة الحاملة بواسطة الارتباط الإدمصاصي أو التساهمي.

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

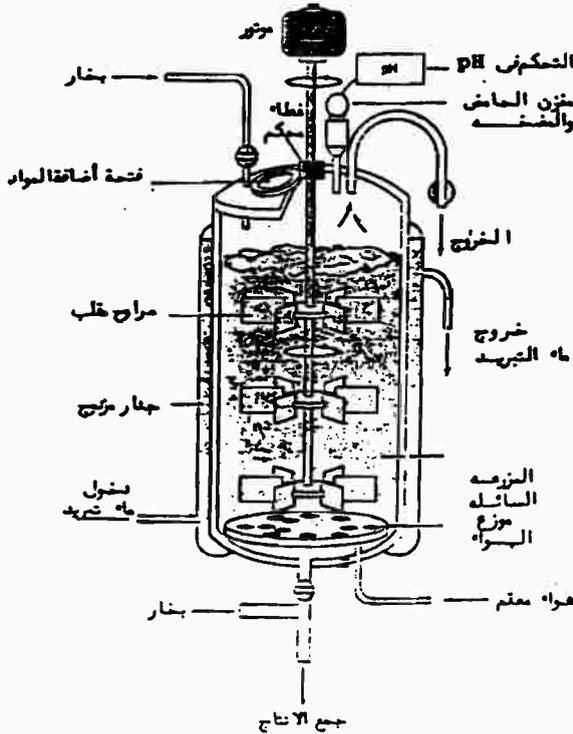
22 - 4 - 4 : تركيب المخمر الهوائي : Construction of aerobic fermentor

يسمى الوعاء الذي تجرى فيه عمليات التخمر في الصناعة بإسم المخمر Fermentor ، وتتنوع المخمرات في الحجم، فهناك المخمر المعملی وسعته 5 - 10 لتر والمخمر الصناعي الكبير والذي تصل سعته إلى 500.000 لتر (500متراً مكعباً). ويتوقف حجم المخمر المستخدم على نوع العملية ذاتها والكيفية التي تتم بها. فالعمليات التي تتم بنظام الدفعات

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

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

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



شكل رقم 22 - 6 : الشكل الداخلى لمخمر صناعى موضحاً به نظم التقليل وملفات التبريد والتسخين

المصدر : Brock, et. al. (1994).

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

وبالنسبة للمخمرات ذات الحجم الصغير فإن توزيع الهواء باستخدام موزع الهواء الدائري يعتبر كافياً لضمان التهوية الجيدة ولكن المخمرات ذات الحجم الإنتاجي الكبير يعتبر تقليب البيئة بواسطة المراوح ضرورة هامة شكل رقم 22 - 6. ووظيفة التقليب الميكانيكي stirring هي :

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

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

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

22 - 4 - 5 مراقبة عمليات التشغيل والتحكم فيها :

Process control and monitoring

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

أ- تجميع البيانات أثناء التشغيل data acquisition والتي تعكس صور التحولات والتغيرات التي تحدث أثناء عملية التخمير.

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

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

المعملى أو المخمر الصناعى الكبير.

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

Scale - up of the fermentation process

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

أ- تداول المواد والخامات: يتم تداول للخامات والمواد وإضافتها يدوياً فى أغلب الأحوال فى المخمر المعملى بينما يتم التداول والتغذية آلياً فى المخمر الصناعى الكبير.

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

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

الصناعى .

- 1- إجراء تجارب معملية أولاً على مستوى الدقيق الزجاجى للتأكد من إتمام هذه العملية .
 - 2- النقل إلى المخمر المعملى وهو عبارة عن مخمر زجاجى صغير سعته بين 5 - 10 لتر والذى تجرى فيه التجارب الخاصة بالمحاولات الأولى لنقل النموذج المعملى وفى هذا المخمر المعملى يمكن إختبار ودراسة تأثير كل من درجة الحرارة ورقم الحموضة والبيئة ومكوناتها وعوامل أخرى وذلك بتكاليف بسيطة .
 - 3- مرحلة المخمر نصف الصناعى pilot plant stage وعادة تجرى هذه التجارب فى مخمر سعته من 300 - 3000 لتر حيث تتشابه ظروف التشغيل هنا لدرجة كبيرة مع ظروف تشغيل المخمر الصناعى الكبير ولكن تكلفة التشغيل تظل أقل بكثير من التكاليف التى يتطلبها تشغيل المخمر الصناعى . وفى المخمر نصف الصناعى يتم إستخدام أجهزة التحكم والكمبيوتر لتجريبية كيفية تجميع وتشغيل البيانات حتى يمكن التوصل لظروف إنتاجية مثلى مشابهة لما تم فى النطاق المعملى الصغير .
 - 4- النقل إلى المخمر الصناعى الكبير والذى تصل سعته من 10000 إلى 500000 لتر وعدد نقل النموذج المعملى فى التخمرات الصناعية الهوائية إلى النموذج الصناعى الكبير وجد أنه يجب المحافظة على قيمة ثابتة لمعدل إنتقال الأكسجين (أى أن قيمة معدل إنتقال الأكسجين تكون هنا هى العامل المشترك بين المخمر الصغير والمخمر الكبير) . فعلى سبيل المثال إذا كان معدل إنتقال الأكسجين اللازم للتوصل إلى أعلى قيمة للمنتج فى المخمر الصغير هو 200 ملليمول أكسجين / لتر. ساعة فيجب أن تصمم وتضبط عمليات التهوية والتقليب فى المخمر الكبير للمحافظة على هذا المعدل .
- وللتوصل العملى لذلك فإنه يجب زيادة سرعة التقليب وإستخدام ضغوط عالية للهواء . ونظراً لأن التقليب عملية ميكانيكية يمكن التعبير عنها بقيمة «قدرة حصانية» power فإن أحد عناصر عملية الإنتقال النموذجى المطبقة عملياً هو النقل بالمحافظة على قدرة حصانية ثابتة constant power لعملية التخمر (لكل وحدة حجم من البيئة) عند نقل النموذج المعملى الصغير إلى النطاق الصناعى الكبير .

22 - 5 إنتاج مزارع البادئات :

Production of starter cultures

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

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

أولاً: إختيار وإنتقاء السلالات الميكروبية:

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

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

- ذات معدل نمو عالى high rate of growth وذلك فى حالة إنتاج نمو ميكروبي.

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

- يفضل عدم وجود نواتج ثانوية سامة غير مرغوبة.

- يجب أن تكون السلالات المستخدمة ذات قدرة عالية على الإستفادة من المواد الخام

المتوفرة وأن تكون درجة احتياجها من عوامل النمو قليلة بقدر الإمكان حتى لا تكون عملية الإنتاج عملية مكلفة.

ويتم الحصول على المزارع الميكروبية النقية المستخدمة فى الصناعة إما بالعزل من

بيئتها الطبيعية مثل (التربة - البحيرات - الأنهار - النباتات - المواد الخام المستخدمة فى الإنتاج مثل المولاس والهيدروكربونات وغيرها ...).

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

المزارع الميكروبية مثل:

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

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

3- Centraalbureau Voor Schimmelculturen, Netherlands "CBS".

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

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

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

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

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

وبالرغم من إختيار السلالة المناسبة ذات المواصفات المطلوبة إلا أن علم الوراثة قد

تدخل فى زيادة تحسين هذه السلالات أو أستنباط سلالات جديدة تفوق السلالة الأصلية،

فمنذ أواخر الثلاثينات استخدمت الطفرات كطريقة لتحسين السلالات فى عدة صناعات

ميكروبية مثل إنتاج البنسلين . والأساس فى إنتاج الطفرات من الميكروبات عملية بسيطة

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

وتقع للمطفرات المنتشرة والسهل الحصول عليها والمستخدم بكثرة تحت مجموعتين أساسيتين: مطفرات كيميائية، مطفرات إشعاعية.

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

ومن أمثلة المواد الكيميائية المستخدمة في إحداث الطفرات.

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

وقد طورت نظم إحداث الطفرات بإستعمال أشعة X ، أشعة γ والأشعة الليزرية والأشعة فوق البنفسجية (طولها الموجي بين 200 - 300 نانوميتر).

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

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

ثانياً : الحفاظ على المزارع الميكروبية: Maintenance of microbial cultures

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

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

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

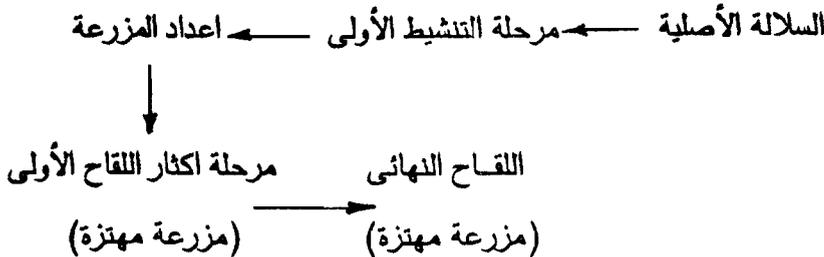
- إزالة الماء الحر من الخلايا أو الجراثيم بواسطة التجفيد Lyophilization وتخزين المنتج تحت تفرغ .

- تخزين الخلايا الخضرية أو الجراثيم في النيتروجين السائل عند درجة حرارة تصل إلى - 196 م .

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

ثالثاً: تجهيز اللقاح: Inoculum preperation

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



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

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

مرحلة اعداد اللقاح الأولى 10% حجم / حجم مرحلة اعداد اللقاح الثانية 10% حجم / حجم مخمر الإنتاج
(مزرعة مهتزة) (مخمر)

22 - 6 المواد الخام اللازمة للصناعات الميكروبية :

Raw materials of microbial industries

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

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

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

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

- أن تكون متوفرة بالبلد وبكميات كبيرة ورخيصة الثمن.

- أن تكون متوفرة على مدار السنة.

- أن يكون محتواها من الكربون مرتفع.

أن يكون مصدر الكربون بها ذو قابلية لإستفادة الميكروب المستخدم.

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

- أن تكون قريبة من مصنع التخمر بقدر الإمكان وذلك لتقليل التكلفة.

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

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

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

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

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

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

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

الميكروبات المستخدمة فى التصنيع وذلك بعد تدعيمها بمصدر للنيتروجين والفسفور .
 فمثلاً قوالب الذرة بعد تجفيفها وطحنها تعامل بحمض الكبريتيك بنسبة 1 : 10 ويعامل حرارياً
 على درجة 134 م° (273.2ف) لمدة ساعة أما مصاصة القصب فتعامل بحمض كبريتيك
 0.2ع على درجة 127 م° (260.6ف) لمدة ساعة بينما يعامل قش الأرز بواسطة حمض
 كبريتيك 0.2ع على درجة 134 م° (273.2ف) لمدة 15 دقيقة .

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

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

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

ويوجد من موالس القصب ثلاث أنواع :

High taste molasses وهو عبارة عن الناتج المركز بعد تبخير عصير القصب والمحتوى على جميع مكونات العصير الأصلية ويوجد معظم السكر فى الصورة المحولة نتيجة لعملية التسخين فى وجود الحمض وتصل نسبة السكريات الكلية به إلى 78 ٪. منها حوالى 38.5 ٪ سكروز والباقى سكر محول وهذا النوع إستخدامه مكلف ولو أن بعض البلاد الأخرى تستخدمه فى بعض الصناعات التخمرية عالية القيمة الإقتصادية.

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

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

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

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

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

التخمير والمنتج النهائي مثل وجود المواد الغروية والملونة وثاني أكسيد الكبريت والنترات والديترينات والفورفورال والأحماض الطيارة وغيرها من المواد. لذلك يجب أن يجرى على المولاس معاملات مبدئية قبل إستخدامه للتخلص من المواد غير المرغوب وجودها به وهذه المعاملات تختلف باختلاف تركيب المولاس واختلاف المنتج المراد إنتاجه .

22 - 7 إنتاج الكتلة الحيوية : Production of biomass

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

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

- إنتاج بادئات مختلفة تستخدم فى صناعات أخرى مثل الصناعات اللبنية المخمرة والصناعات الكحولية إلخ وغيرها .

- إنتاج خميرة الخباز (مضغوطة - جافة نشطة - جافة نشطة لحظية) .

- إستخدام الخلايا الناتجة كمصدر للبروتين (SCP) .

- إستخدام الخلايا الناتجة كمصدر للدهون (SCO) .

- استخلاص مكونات معينة من الخلايا الناتجة والنمى لهذا الغرض مثل الفيتامينات

- الأحماض الأمينية - الأحماض النووية .. وغيرها .

22 - 7 - 1 إنتاج الخميرة : Production of yeast

تقسم الخميرة على أساس نشاطها إلى :

(أ) الخميرة النشطة active yeast وهى الخميرة المستخدمة فى عمليات التخمير

المختلفة وتسمى خميرة الخباز baker's yeast وتضم الخميرة المضغوطة والخميرة الجافة

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

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

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

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

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

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

1- الخميرة المضغوطة Compressed yeast

تعرف بأنها الناتج من كريمة الخميرة بعد خلطها مع بعض المواد المستحلبة وتعرض لعملية بثق تحت ضغط (Extruded) ثم ضغطها وإما أن تقطع في صورة مكعبات بأحجام مختلفة ويطلق عليها cake yeast (CY) أو تكون في صورة مغزولة ذات أحجام غير متجانسة من 1 سم × 5-10 سم ويطلق عليها cake crumbled yeast (CCY) وتعبأ في عبوات من 25 - 50 رطل وكلاً من CY, CCY تكون سريعة التلف وتصل مدة حفظ CY إلى 4 - 5 أسابيع أما الـ CCY فتصل إلى 3 - 4 أسابيع على درجة حرارة 2 - 7 م . وتعتبر الخميرة المضغوطة أكثر حيوية ونشاطاً بالمقارنة بالصور الأخرى من الخميرة النشطة .

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

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

وقبل إضافة الخميرة الجافة النشطة للدقيق يجب إسترجاعها فى ماء دافئ درجة حرارته 43°م لمدة 5 - 10 دقيقة ودرجة حرارة الماء تعتبر حرجة حيث أن إرتفاعها عن 54°م تقتل الخميرة بينما الماء البارد يحدث صدمة لخلايا الخميرة مسبباً فقد فى بعض المكونات المسؤلة عن نشاطها .

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

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

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

ب- الخميرة غير النشطة : Inactive yeast

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

مشتقات الخميرة yeast derivatives :

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

ناتج تحلل خلايا الخميرة yeast autolysates :

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

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

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

مستخلص الخميرة yeast extracts :

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

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

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

مشتقات أخرى other derivatives :

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

مثل *Phaffia rhodoryma* التي استرعت الإنتباه وهذه الصبغات تكسب اللون الأحمر لأسماك السلمون *Salmon* والقروا *Traut* وغيرها من الأحياء البحرية لذلك استخدمت في تغذية الأسماك.

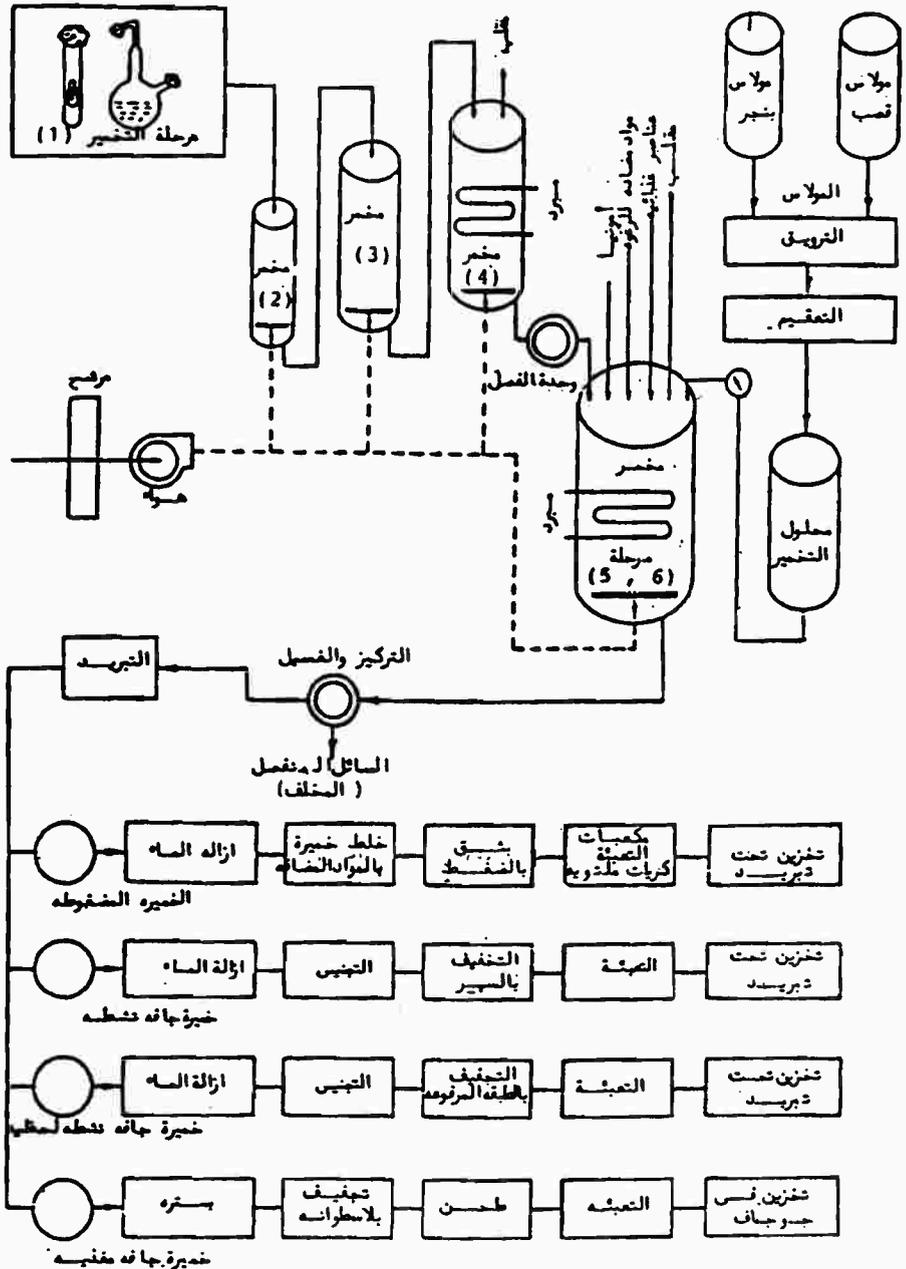
ومن بين المشتقات المستخلصة الأخرى الجلايكان *Glycan* وهو عبارة عن المكون الخام للجدار الخلوي لخميرة البيرة *Brewers yeast* أو خميرة الخباز *Baker's yeast* ويستخرج بالطرد المركزي بعد إعداد مستخلص الخلايا ثم تجرى عملية بسترة وتجفيف. وهو يحتوي على مواد كربوهيدراتية لا تقل نسبتها عن 75 ٪ من تركيبه وهذه تتكون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

22-7-2 إنتاج البروتين الميكروبي :

Prduction of single cell protien (SCP)

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

- سرعة معدل نموها .
 - كفاءتها المرتفعة في الاستفادة من المواد الخام الرخيصة والمتوفرة (كمنتجات ثانوية أو مخلفات تصنيع) وتحولها إلى خلايا.
 - إنتاجها لا يعتمد على مساحات كبيرة ولا يتوقف على الظروف الجوية مثل المحاصيل النباتية.
 - يمكن إستخدامها في التغذية مباشرة أو بطريقة غير مباشرة بتغذية الحيوانات عليها.
- ومن الأجناس الهامة التي تستخدم كمصدر للبروتين ما يلي :



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

المصدر : (1979) . Pepler

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

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

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

الإنتاج / اليوم (%)	البروتين المنتج (كجم / يوم)	الكائن (لكل 1000 كجم)
0.1	1	الأبقار
1	10	فول الصويا
10^4	10^5	الخمائر
10^{10}	10^{11}	البكتيريا

المصدر : Riviere, et. al., (1977).

وتختلف المواد الخام المستخدمة فى الإنتاج تبعاً لنوع الميكروب المستخدم فى الإنتاج وتبعاً لتوفر هذه المواد وانخفاض سعرها وسهولة إستخدامها كما هو موضح فى الشكل رقم 22 - 8 ورغم معيزات البروتين الميكروبى فإن المنتج يواجه عدد من المشاكل مثل محتواه العالى من الأحماض النووية وقابليته المنخفضة للهضم .

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

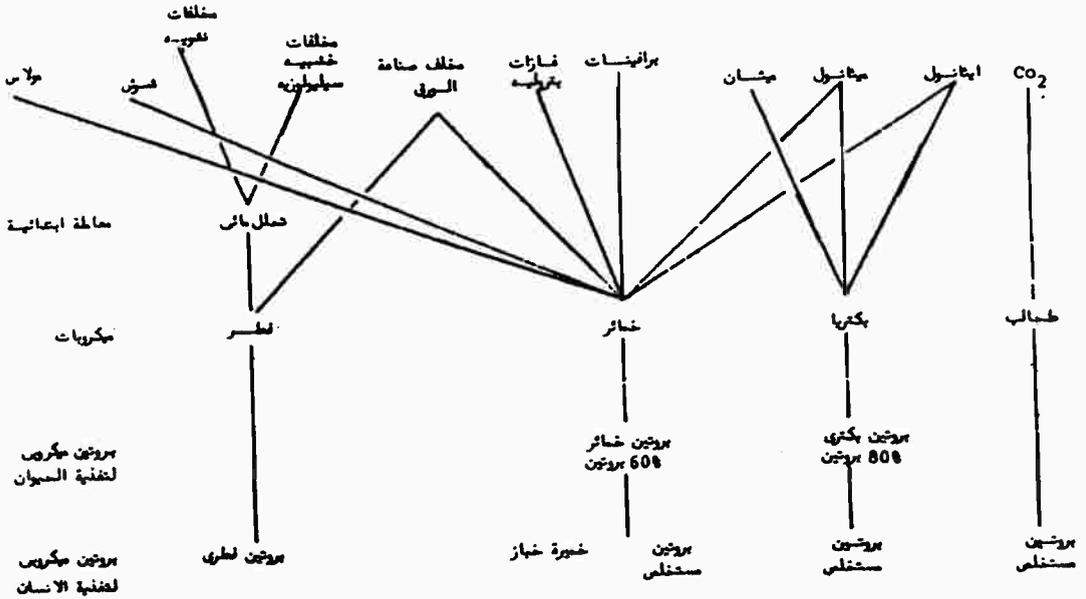
البكتريا	للخمائر	الطحالب	الأعفان	
78 - 72	53 - 46	62 - 46	50 - 31	البروتين
3.0 - 1.0	6 - 2	20 - 7	8 - 2	الليبيدات
7 - 3	9.5 - 5	10 - 8	14 - 9	الرماد
16 - 8	12 - 6	8 - 3		الأحماض النووية

المصدر: (Riviera et. al., 1977).

أولاً : البروتين الخماثري : Yeast protein

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

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



شكل رقم 22 - 8 : الخامات المستخدمة في إنتاج البروتين الميكروبي (SCP)

من مجاميع للميكروبات المختلفة

المصدر: Reed , (1982) .

ثانياً: البروتين البكتيري : Bacterial protein

يمكن الحصول على البروتين البكتيري من أنواع مختلفة من البكتيريا وفيما يلي بعض

هذه الأنواع :

* بكتريا الهيدروجين Hydrogen bacteria

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

Alcaligenes eutrophus, *Variovorax paradoxus* (*Alc. Paradoxus*).

ونظراً لأن بكتريا الهيدروجين تعتبر مصدر بروتيني ذو فائدة مرتفعة لذلك فقد أجريت دراسات اقتصادية في هذا المجال ومن النقاط التي جلبت الانتباه هي أن المواد المكونة لبيئة النمو مثل CO_2 و H_2 و O_2 والأملاح المعدنية لا تؤدي إلى حدوث تلوث للنمو الميكروبي بالعوامل الخارجية المسؤولة عن حدوث التأثيرات السرطانية كما في حالة استخدام الهيدروكربون Hydrocarbon في إنتاج البروتين الميكروبي.

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

* البكتريا الممثلة لغاز الميثان أو الميثانول

Bacteria utilizing methane or methanol

يتميز الميثان برخصه وتوفره ويعتبر مكون أساسي من غازات البترول بالإضافة إلى إمكانية إنتاجه خلال عمليات الهضم اللاهوائية لمخلفات المجارى ويمثل غاز الميثان أبسط صور الكربون عند استخدامه لنمو البكتريا ويتميز استخدام غاز الميثان في أن الكمية غير المستهلكة من الغاز يمكن التخلص منها بسهولة عند إسترجاع البروتين الميكروبي فهو غاز ضعيف الذوبان في الماء. ومن الأجناس التي لها القدرة على إستخدام الميثان والميثانول الـ *Methylococcus* و الـ *Methylomonas*.

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

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

ثالثاً: البروتين الفطرى : Fungal protein

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

رابعاً: البروتين الطحلبى : Algal protein

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

المصدر الوحيد الإقتصادي كمصدر للضوء وتنمو الطحالب في بحيرات ومستنقعات لا يزيد عمقها عن 20-30 سم حيث نفاذ الضوء هو العامل المحدد لكثافة النمو الناتج والنمو الميكروبي الضئيل حيث يحتاج لإنتاج 1 جم / لتر كوزن جاف (0.4 جم كبريت، 0.1 جم نيتروجين، 0.01 جم فسفور) والمصدرين الآخرين يستخدم لهما أملاح غير عضوية. ومن غير المرغوب الحصول على نمو كثيف لأن هذا قد يؤدي إلى عدم نفاذ الضوء وبالتالي يلزم عملية الإنتاج وجود تقلب حتى لا تترسب بعض الخلايا في القاع مما يؤدي إلى عدم نموها كذلك طفورها على السطح يؤدي إلى جفافها ودرجة الحرارة اللازمة تتراوح من 25 - 35 م° تبعاً للسلالة المستخدمة. ومما يجب ملاحظته أن استخدام مستنقعات أو بحيرات مفتوحة تؤدي إلى تلوث النمو الناتج وإنتاج الطحالب يحتاج أجواء معينة من درجة الحرارة والشمس المناسبة . كذلك فإن إختلاف فصول السنة في درجة الحرارة . يحتم الأهتمام بأختيار سلالة الطحلب التي تتميز بإتساع مدى درجات الحرارة المثلث لنموها كما تتطلب عملية جمع النمو بإستخدام عملية الطفو ثم طرد مركزي (وفي بعض الأوقات ذات الجو الدافئ يتم الطفو تلقائياً عند إرتفاع درجة الحرارة ورقم الأس الهيدروجيني للماء في فترة بعد الظهيرة وذلك لزيادة غاز CO₂ المستهلك) ومن الطحالب والبكتريا الخضراء المزرقمة المناسبة لهذا الإنتاج. *Spirulina , Spirogyra , Vaucheria , Porphyra , Hormidium , etc.*

ويحتوي الطحلب الناتج على 60% بروتين بالنسبة للوزن الجاف.

المعاملات التي تجرى على الخلايا لإستخدامها كمصدر للبروتين

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

أولاً : تكسير جدر الخلايا : Disintigration of the cell wall

من المعروف أن الصورة الأولية التي يوجد عليها البروتين الميكروبي عبارة عن خلايا محاطة بجدار خلوي ووجود هذا الجدار يؤدي إلى عدم قابليتها للهضم بواسطة الإنسان ولذلك لا بد من تحطيم جدار الخلية للرفع من كفاءة الإستخلاص للمحتويات الداخلية للخلايا وعلى رأسها البروتين. ومن الطرق المتبعة لهذا الغرض: الطحن التجميد والتسييل - إستخدام الضغط ثم خفض الضغط بسرعة - إستخدام الموجات فوق الصوتية - الإستخلاص بالمذيبات أو الأحماض أو القواعد ... الخ.

وتقيم كفاءة كل من الطرق السابقة في عملية تكسير جدر الخلايا على أساس كمية البروتين المتحصل عليها من الخلايا وكذلك بالفحص الميكروسكوبي لمعرفة الخلايا المصبوغة والتي لم يتم تكسير جدرانها وكذلك إمكانية تطبيق الطريقة على النطاق التجارى. ولقد أتضح من تجارب عديدة أنه يفضل إجراء التحطيم للميكانيكى لجدر الخلايا بأى من الطرق السابقة مع إجراء إستخلاص للبروتين باستخدام الأحماض العضوية أو اليوريا أو كربونات الصوديوم أو محلول ملحي لكوريد الصوديوم ولكن يعاب على إستخدام المركبات الكيميائية في الإستخلاص أنه يحدث فقد لبعض أنواع من الأحماض الأمينية.

وهناك طرق أخرى حديثة لتكسير جدر الخلايا منها:

أ- التحليل الإنزيمى لجدر الخلايا بواسطة إنزيمات السيلوليز، ولكن هذه الطريقة أعطت نتائج منخفضة في كفاءة هضم البروتين الميكروبي وذلك لوجود مركبات غير سيلولوزية في جدر خلايا الميكروب.

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

ج- خلط خلايا الخميرة بالزيوت الصالحة للأكل وتسخن على درجة 175 °م لعدة دقائق ثم تفصل خلايا الخميرة والنتائج يتميز بطعم ورائحة مستساغة.

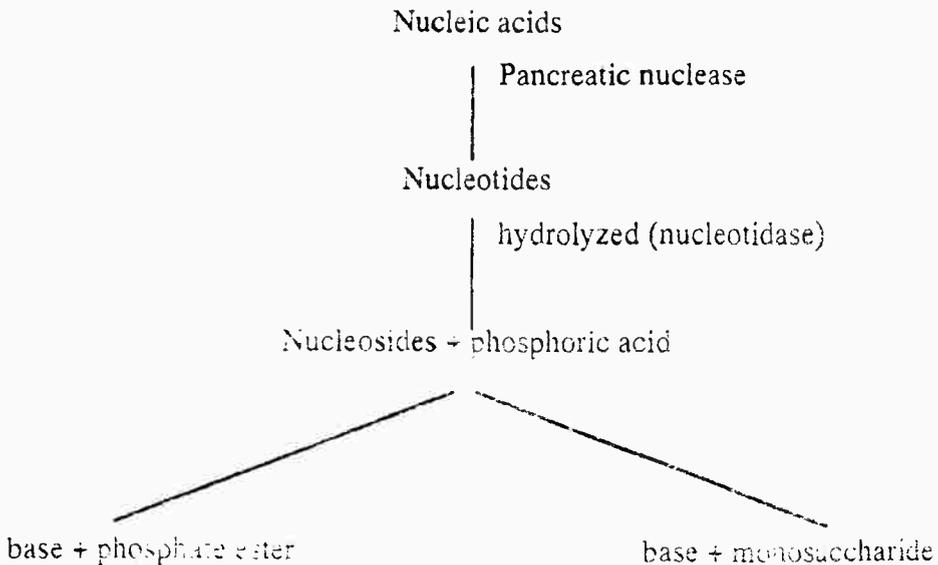
د- وهناك طريقة أخرى بسيطة ورخيصة وتتمثل فى تعطيم جدر الخلايا عن طريق التعقيم تحت ضغط للخلايا ثم التجفيف فتتحطم جدر الخلايا بدرجات متفاوتة .

وبصفة عامة تزداد كفاءة الهضم للخلايا المحطمة عن الخلايا الكاملة فمثلاً تزداد الكفاءة الهضمية لخلايا الـ *Bacillus megaterium* من 76% للخلايا الكاملة إلى 94% للخلايا المحطمة وكذلك تزداد من 65% لخلايا الـ *Pichia jadinii* (*Candida utilis*) الكاملة إلى 95% للخلايا المحطمة .

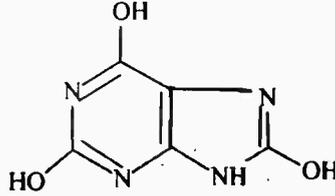
ثانياً : خفض نسبة الأحماض النووية : Reduction of nucleic acids

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

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



وتتحول قواعد البيرين في الإنسان وتعطى في النهاية حامض اليوريك



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

* الطرق المختلفة لإختزال الأحماض النووية في الـ SCP .

مما سبق يتضح أنه لا بد من خفض نسبة الأحماض النووية عند استخدام البروتين وحيد الخلية كمصدر للبروتين وللحصول على طريقة مقبولة للمعالجة يجب أن تكون الطريقة رخيصة وفعالة في خفض نسبة الأحماض النووية والنتائج لا يكون ملوثاً بمواد كيميائية غير مرغوب فيها.

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

- استخدام طريقة الصدمة الحرارية thermal shock على درجة حرارة 54 - 70 م° لمدة ثواني يتبعه تحضين على درجة حرارة 45 - 50 م° لمدة 2 ساعة وتحضين على درجة حرارة 55 - 60 م° لمدة ساعة. وعند إختصار خطورة الصدمة الحرارية فإن الخطوتين المتتاليتين للتحضين تؤدي إلى إختزال 10 % فقط من الأحماض النووية بدلاً من 80-85 %

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

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

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

22 - 7 - 3 إنتاج الزيوت الميكروبية :

Production of single cell oil (SCO)

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

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

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

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

أولاً : الخمائر :

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

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

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

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

(ج) *Candida sp.*

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

(د) *Cryptococcus terricolus*

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

ثانياً : الأعفان :

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

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

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

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

22 - 8 الأغذية المتخمرة : Fermented foods

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

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

ويمكن تلخيص دور التخمر فى إنتاج الأغذية المتخمرة فيما يلى :

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

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

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

ويمكن تقسيم الأغذية المتخمرة إلى :

- 1- المشروبات الكحولية .
- 2- منتجات الخضر والفاكهة المتخمرة .
- 3- منتجات الحبوب المتخمرة .
- 4- منتجات اللحم المتخمرة .
- 5- منتجات الأسماك المتخمرة .
- 6- البقوليات المتخمرة .
- 7- منتجات أخرى .

22 - 8 - 1 المشروبات الكحولية : Alcoholic beverages

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

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

* مشروبات المولت المتخمرة : Malt beverages

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

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

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

- 1- ضعيفة التجمع أو مفردة poorly flocculative, powdery yeast .
 2- عالية التجمع أو متكتلة highly flocculative , clumping yeast .

وهذه الخاصية تؤثر بدورها على صفات المنتج النهائي حيث أن الخميرة التي لها القدرة على التجمع تنفصل مبكراً من محلول التخمر مما يؤدي إلى إنتاج منتج غير مكتمل التخمر ومرتفع في نسبة السكر بالتالي كما أنها تتميز بعدم وجود النكهة المسماة harsh flavour التي تنشأ في البيرة لإفرازات الخميرة والتغيرات الإنزيمية التي تسببها. وعلى العكس فالخميرة قليلة التجمع powdery yeast . تلتج بيرة ثابتة المواصفات بالإضافة إلى بقاء كمية صغيرة من الخميرة كافية لإتمام التخمرات الثانوية أثناء فترة التعتيق. أما الخميرة غير المتجمعة very powdery yeast فإنها تعيق كفاءة عملية الترويق مما يؤثر على جودة المنتج.

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

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

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

باستخدام درجة حرارة 50° م حتى لا تتأثر الإنزيمات ومع انخفاض نسبة الرطوبة يمكن استخدام درجات حرارة أعلى وتكون الدرجة النهائية 80° م.

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

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

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

* أما حشيشة الدينار المستخدمة في إنتاج مشروبات المولت فهي النورات المؤنثة المجففة لنبات حشيشة الدينار hops وهي تصانف بغرض تأثيرها الحافظ للمنتج anticiptic كما أنها المسؤلة عن الطعم والنكهة للمميزين للناتج النهائي فهي مصدر لكل من التانينات tannins والراتنجات resins والزيوت الطيارة essential oils والبكتين وغيرها من المركبات.

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

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

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

- درجة الأس الهيدروجيني يتراوح بين 6.5 - 7 - يحتوى على أقل من 20 - 250 جزء في المليون من الكربونات الكافية، أقل من 250 - 500 جزء في المليون كبريتات الكالسيوم، أقل من 200 - 300 جزء في المليون كلوريد صوديوم وأقل من 0.1 جزء في المليون حديد.

وتتلخص خطوات التصنيع فيما يلى :

عملية الإستخلاص Mashing

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

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

ويوجد نظامان للإستخلاص:

1- الإستخلاص بدون غليان Infusion method

وهناك طريقتان تتبعان في هذا الخصوص وهما :

أ- طريقة الرفع : Upword method

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

ب- طريقة الخفض : Downword method

في هذه الطريقة ترفع درجة حرارة الماء والمواد المساعدة إلى 77° م ثم يضاف المولت والذي يعمل على خفض درجة الحرارة إلى 55° م - 70° م فتتنشط الإنزيمات المحللة للنشا ثم تخفض بعد ذلك إلى 40° م لتشجيع عمل الإنزيمات المحللة للبروتين. ويلاحظ في هذه الطريقة أن درجة الحرارة النهائية منخفضة عن درجة الحرارة المبتدئ بها .

2- الإستخلاص بالغليان Decoction method

وفي هذه الطريقة يسخن المولت مع الماء على درجة حرارة منخفضة 40° م لمدة نصف ساعة لكي تنشط الإنزيمات المحللة للبروتين. ثم ترفع درجة الحرارة تدريجياً حتى 75° م وذلك بأخذ جزء من الخليط (حوالي الثلث) وغليه وإضافته إلى المستخلص الأصلي، والجزء الذي يغلي يحدث فيه تليين لجدران خلايا الحبوب مما يسهل عملية الإستخلاص، وتكرر هذه العملية مرة أو مرتان أو ثلاث مرات وعلى ذلك تُسمى single, double or triple mashing process. وفي هذه الطريقة تنتج كمية كبيرة من المستخلص ولكن النكهة تكون أفضل في النظام الأول.

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

بينما درجة الحرارة المرتفعة 70 - 75 تنتج كمية أكبر من الدكستريانات التي تسبب بطئ عملية الترشيح كما أنها لا تتخمر بواسطة الخميرة. ومن ذلك يستنتج أن استخدام درجة حرارة منخفضة يؤدي إلى إنتاج كمية كبيرة من السكر ومنخفض من الدكستريانات وقد يضاف في بعض المصانع مستخلص الإنزيمات لتحويل الدكستريانات إلى مالتوز وجلوكوز والتي تخمر بعد ذلك بواسطة الخميرة.

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

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

ولتوحيد تركيب ومواصفات الناتج النهائي يجب توحيد الوقت اللازم لعملية الإستخلاص ويتوقف الوقت المستخدم على درجة الحرارة - للحموضة - تركيز المستخلص وغيرها من العوامل.

بعد غلى مستخلص الشعير المنبت (wort) وتصفيته للتخلص من المواد المتجمعة الراسبة ومن حشيشة الدينار المتبقية يبرد فجائياً إلى الدرجة الملائمة لعملية التخمير ثم يفتح بعد ذلك بالبادئ المجهز من المزرعة المنتخبة ونسبة الإضافة اللازمة لعملية التخمير هي 1 رطل / برميل (30 جالون) من الـ wort وتتوقف درجة حرارة التخمير والمدة اللازمة للتخمير تبعاً لنوع عملية التخمير (باستخدام خميرة قمية أو قاعية) فمثلاً في حالة الخميرة القمية تتم على درجة حرارة 15.5 م° لمدة 5 - 7 أيام كما هو الحال في إنتاج الـ ale beer أما في حالة الخميرة القاعية لإنتاج lager beer تفضل درجة الحرارة 7.7 م° لمدة 7 - 12 يوم وفي أول مراحل التخمير تتكون السكريات الأحادية من المالتوز ثم يمر الجلوكوز بدوره (EMP) Embden - Meyerhof pathway و بجانب إنتاج الكحول وثاني أكسيد

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

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

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

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

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

1- التقطير وفصل الكحول Distillation and dealcolization

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

2- التخفيف Dilution

وفيهما يتم تخفيف المركز من 16.5% إلى 5.5% وحالياً تخفف إلى 4% وذلك باستخدام ماء معالج مكرين لمنع الأكسدة.

3- إعداد المحلول السكرى

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

أثناء عملية الإذابة يضاف قدر محسوب من حمض الستريك لخفض درجة الحموضة إلى 2-3 pH تقريباً وبعد تبريده واستقباله فى صهريج الحفظ تضاف مكسبات الطعم المراد إضافتها له سواء كان ليمون أو تفاح مركز بالقدر المناسب وبعد ذلك يجرى التخفيف إلى تركيز 12% حيث يتم خلط المحلول السكرى (12%) مع wort المخفف 4% بنسبة 1:1 وإنتاج خليط شراب المولت المطعم بطعم الليمون أو التفاح بتركيز سكر 8%. يجرى ترشيح الخليط بعد 24 ساعة من تجهيزه وتام التجانس ويبرد أثناء الترشيح إلى درجة حرارة تقرب من الصفر مع إجراء عملية الكريئة (إضافة ثانى أكسيد الكربون) إلى نسبة 0.60% (نسبة وزنية) وإستقبال المترشح فى صهاريج التعبئة إستعداداً لتعبئته بعد ساعة من الترشيح.

تجرى التعبئة فى زجاجات (تم غسلها فى ماكينات الغسيل) تحت ضغط من ثانى أكسيد الكربون ثم تجرى عملية البسترة على 62°م لمدة 20 دقيقة ثم لصق البطاقات labels

على الزجاجاة ثم توضع فى الصناديق والتخزين بعد ذلك.

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

22 - 8 - 2 منتجات الخضـر والفاكهة المتخمرة :

Fermented fruit and vegetable products

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

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

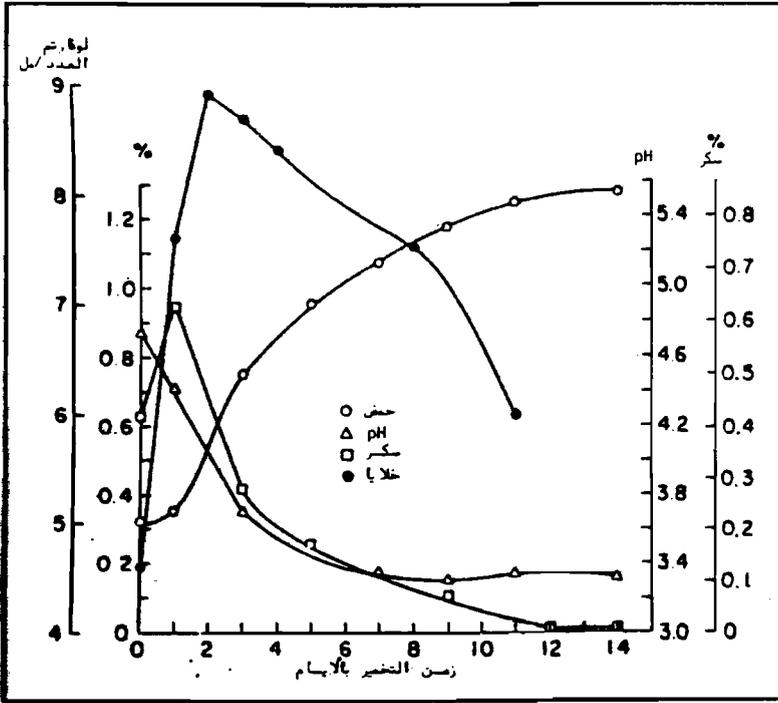
وتختلف خطوات إعداد الثمار للتخليل تبعاً لنوع الثمار المستخدمة فى التخليل، فمثلاً الخيار يكتفى بغسله وفرزه وتدرجه للحجم المرغوب فى التخليل بينما الكرنب تقطع الأوراق الداخلية إلى شرائح أما اللفت فتزال الأوراق والجذور الثانوية الموجودة على الجذر الدرني الأصلي ثم تجزأ تبعاً للطلب، ويعامل الزيتون بالقلوى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

للمواد المسؤلة عن المرارة وتغيير النكهة.

أولاً : الكرنب المخلل : Sauerkraut

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

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



شكل 22 - 9 : التغيرات الكيموحيوية أثناء فترة تخمير الخضروات
المصدر : Reed , (1982) .

وينتج في نهاية مرحلة التخمر خليط من الأحماض وأهمها وأكثرها وجوداً هو حامض اللاكتيك مع أحماض طيارة أخرى منها حامض الخليك وحامض البروبيونيك وخليط من الغازات منها ثاني أكسيد الكربون (الغاز الأساسي) مع كميات صغيرة من الكحول والمركبات المسولة عن النكهة بالإضافة إلى تفاعل الكحول مع الأحماض لإنتاج الإسترات المسولة أيضاً عن نكهة المنتج النهائي. وهذه الحموضة المتكونة بواسطة البكتريا المرغوبة تتحكم في نظام التخمر عن طريق وقف التغييرات غير المرغوبة مثل التحلل اللاهوائي البروتيني للكربن ونظراً لأن الميكروبات غير المرغوبة لا تثبط في وجود تركيز ملح أقل من 5-7% لذلك

فالحموضة المتكونة هي المسؤولة عن التحكم في الميكروبات المسببة للفساد وليس الملح.

ومن أهم العوامل المسؤولة عن نجاح أو فشل عملية التخليل هي درجة الحرارة، حيث أن درجة الحرارة المثلى للوصول إلى تخمر أمثل للكربن هي 21°م وحدوث أى تغيير فى هذه الحدود يؤثر على جودة المنتج نظراً لتأثيرها على نشاط الفلورا المسؤولة عن عملية التخمير وعموماً فدرجة الحرارة التى تتراوح بين 18 - 22°م أكثر ملائمة لبدأ خطوة التخمير حيث أن مجموعة بكتريا *Leuconostoc* أكثر حساسية للحرارة كما أنها المسؤولة عن بدأ التخمير. بينما درجة الحرارة الأعلى من 22°م تلائم نمو الـ *Lactobacilli*، وبالرغم من أهمية هذه المجموعة لإنهاء خطوة التخمير إلا أن نشاطها فى أول مرحلة التخمير غير مرغوب وتقل من جودة للمنتج نظراً لتأثيرها الضار على ضعف نكهة الناتج النهائى.

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

ثانياً: الخيار المخلل : Fermented cucumber

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

البادئ يتكون من خليط من الفلورا الطبيعية للخيار. وفي الإنتاج الطبيعي للخيار المخلل فإن البكتريا المنتجة لحمض اللاكتيك خلال خطوات التخمير هي *L. brevis*

Pediococcus وتعتبر *L. plantarum* , *Enterococcus faecalis* (*S. faecalis*), *acidilactici* , *L. plantarum* أكثرها وجوداً أما الـ *L. brevis* فتعتبر غير مرغوبة نظراً لقدرتها على إنتاج الغاز بينما الـ *L. plantarum* تعتبر من أكثر الأنواع الأساسية لإنتاج المخلل كما هو الحال في الكرنب المخلل.

ويجب مراعاة مواصفات الماء المستخدم في تحضير المحلول الملحي فلا يستعمل إلا الماء المعامل بالكlor و يجب ألا يكون الماء المستخدم عسر لذلك فالمالح المستخدم يجب أن يحتوى على أقل من 1% كبرونات أو بيكربونات الصوديوم أو الكالسيوم أو المغنسيوم حيث أن هذه الأملاح تعادل الحموضة الناتجة عن التخمر اللاكتيكي وتصبح الظروف ملائمة لنمو البكتريا المحللة للبروتينات.

ونظراً لانخفاض المحتوى السكرى للخيار مقارنة بالكرنب فإنه يفضل استخدام بادئ منمأ لنمو ميكروبات أخرى كذلك قد يفضل إضافة سكر بنسبة 1% حتى تتوفر الظروف للتخمير المرغوب وخاصة في الأنواع المنخفضة في السكر.

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

ثالثاً: الزيتون المخلل : Fermented olives

توجد أصناف مختلفة من الزيتون الأخضر تصلح للتخليل، وتختلف هذه الأصناف من بلد لآخر، فمثلاً في أسبانياً يفضل أصناف الـ *Sevillane* , *Manzanille* ، بينما في كاليفورنيا يفضل صنف *Mission* وفي مصر توجد أصناف عديدة مثل العزيزى والتفاحى والبلدى الشمالى والـ *Mission* والـ *Manzanille*. وتتبع الخطوات الأولى من اختيار الثمار وفرزها وتدرجها ومعاملة الثمار بالقلوى حيث ينقع فى محلول 1.6 - 2% ايدروكسيد

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

ويتكون خلال مرحلة التخمير العديد من الأحماض العضوية وتعتمد درجة الحموضة الناتجة على نوع الزيتون وتركيبه الكيماوى كذلك تركيز الملح فأستخدام تركيز منخفض يكون نمو وتكاثر الميكروبات سريع مما يؤدي بالتالى إلى سرعة تغيير الحموضة والـ (pH) وقد وجد أن الـ pH للمحلول الملحي للزيتون المخال ينخفض من 7 إلى 4.6 ، كذلك ينخفض تركيز كلوريد الصوديوم من 8 % إلى 5.5% بينما السكريات المختزلة ترتفع من الصفر إلى 0.4 % لذلك يكون تكوين الحموضة سريع في 7 - 14 يوم الأولى من بداية التخمير. وبالرغم من زيادة الحموضة إلا أن قيمة الـ pH للمحلول الملحي يظل ثابت (4.5-4) وهذا يدل على وجود قوة منظمة فى المحلول كما وجد أن المحلول الطبيعى للزيتون المخال يحتوى على حمض خليك وحمض لاكتيك فقط بينما غير الطبيعى يحتوى على أحماض (فورميك وبروبيونيك وبيوتيريك و سكسينيك) . بالإضافة إلى حمض اللاكتيك .

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

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

أولاً: الكشك : Kishk

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

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

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

ثانياً : الخبز ومنتجات المخاز : Bread and baked goods

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

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

تتكون من 30% بيكربونات صوديوم مع أحد الأملاح الحامضية مثل بيروفوسفات الصوديوم الحامضية - فوسفات أحادي الصوديوم أو غيرها من المواد). ويشترط في منتج الخميرة المستخدم لهذا الغرض أن تكون نشطة وتنتج كمية كبيرة من ثاني أكسيد الكربون في وقت قصير. وتختبر كفاءتها عن طريق تقدير حجم ثاني أكسيد الكربون الناتج عند ضغط ثابت أو تقدير الضغط الناتج عند ثبات الحجم.

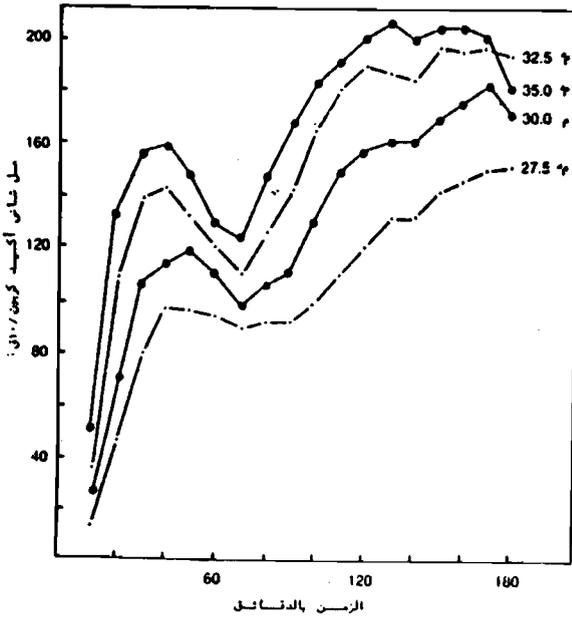
ومن أهم العوامل المؤثرة على نشاط الخميرة في العجين درجة الحرارة حيث أن معدل التخمير يزداد مع الارتفاع في درجة الحرارة إلى حد معين من الارتفاع ثم تبدأ في الانخفاض عند 40°م فأكثر. ويعزى الارتفاع الناتج في رغيف العيش أثناء الخبيز oven-spring إلى ثاني أكسيد الكربون الناتج عن التخمر بالإضافة إلى كمية ثاني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

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

ويلاحظ وجود الكحول في الخبز بعد خروجه من الفرن مباشرة في رائحة اللبابة . ومن الأبحاث وجد أن كمية الإيثانول تصل إلى نسبة 0.8% على أساس وزن الدقيق، وتتوقف نسبة الكحول بالإضافة إلى درجة الحرارة المستخدمة في الخبيز على حجم الرغيف، طريقة التبريد، نوع الخبز وطريقة العجن. حيث تصل في الطريقة الإسفنجية spong dough إلى 3% بينما في الطريقة المباشرة straight dough يحتوى على 1.5% فقط على أساس وزن المواد الصلبة في الرغيف.

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

السكر المتكون في الدقيق وكذلك المالتوز الناتج بتأثير الإنزيمات على النشا وبالرغم من أن كمية السكر الموجودة بالدقيق صغيرة إلا أنها المصدر الوحيد للتخمر في بدأ عملية التخمر وهذه النسبة تمثل 0.3 - 0.5 % فقط من الكربوهيدرات الكلية بالدقيق وبالرغم من صغرها إلا أنها تكفي لبدء عملية التخمر ولتشجيع إنزيمات الخميرة المسؤولة عن تخمير المالتوز للبدأ في التفاعل. وتتخمر سكريات الجلوكوز والفركتوز والسكروز والمالتوز بسرعة بواسطة خميرة الخباز، ومن المعروف أن هذه السكريات تتخمر عن طريق دورة EMP ويلاحظ أن السكريات الأحادية تتخمر دون أن تمر بفترة تحضيرية induction period حيث أن الإنزيمات المسؤولة عن تحللها من نوع الإنزيمات التكوينية (الأساسية) constitutive enzyme وعلى العكس من ذلك فإن إنزيم الجلوكوسيداز glucosidase المسؤولة عن تحلل المالتوز من النوع المحفز adaptive (Inducible) enzyme لذلك يلاحظ وجود فترة تحضيرية induction period قبل تخمر سكر المالتوز كما هو موضح في شكل رقم 10-22 ، كما يلاحظ في الشكل تأثير درجة الحرارة على سرعة التخمر.



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

المصدر: (1982), Reed .

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

ولتخمير أكبر كمية من السكر في أقصر وقت تحتاج إلى كمية أكبر من الخميرة المستخدمة في التخمير، ولكن الذي يتحكم في مدة التخمير الفترة التحضيرية التي تمر بها الخميرة قبل أن تصل إلى أقصى درجة من التخمير. وعادة لا يستخدم أكثر من 8% خميرة مضغوطة على أساس وزن الدقيق. ومن تجارب أخرى عند استخدام 2.5% خميرة تم الحصول على أحسن مواصفات للخبز بينما عند مضاعفة هذه النسبة أو خفضها إلى النصف كانت المواصفات غير مقبولة سواء من جهة اللون أو القوام أو النكهة. ويختلف تركيز الخميرة المستخدمة حسب نشاطها.

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

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

دور الخميرة في صناعة الخبز : Function of yeast in bread making

للخميرة ثلاث وظائف رئيسية في صناعة الخبز.

1- نضج العجين Dough maturing

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

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

2- الرفع Leavening

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

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

3- تطور النكهة : Flavour development

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

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

وتتأثر درجة تلوّن القشرة الخارجية للخبز باللون البنّي بالمواد التي تؤثر على نشاط

الخميرة في الخبز كما أن جزء من اللكهة المتكونة على قشرة الخبز يتكون أثناء عملية الخبز ثم تنتشر وتمتص داخل اللبابة الداخلية.

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

تستخدم الميكروبات في اللحوم المتخمرة بإحدى الطرق الرئيسية الآتية:

* تخمر طبيعي natural fermentation والذي يعتمد على توظيف الفلورا الطبيعية الموجودة باللحوم للقيام بعملية التخمر.

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

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

ويجب أن يتوافر في البادئ المستخدم في صناعة اللحوم المتخمرة ما يلي :-

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

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

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

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

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

والأجناس التجارية التي تُستخدم كبادئات في تخمرات اللحوم يمكن إجمالها فيما يلي :

Lactococcus، Enterococcus ، Lactobacillus ، Leuconostoc ، Pediococcus

، *Vagococcus* ، *Micrococcus* .

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

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

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

ويعتبر السجق المتخمّر هو أكثر منتجات اللحوم المتخمّرة إنتشاراً وشيوعاً والذي يقسم إلى السجق النصف جاف (يحتوى على 35 - 45 % رطوبة) والسجق الجاف (يحتوى على أقل من 30 % رطوبة).

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

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

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

فعدت دراسة الناتج المتخمّر للأسماك وجد أن درجة الـ pH تتراوح بين 6.2 - 6.6 من بداية إلى نهاية التخمير ونسبة كلوريد الصوديوم 30% بعد 12 شهر تخمير ، هذه التغييرات مع إرتفاع نسبي في درجة حرارة التخمير تؤدي إلى نمو وسيادة الميكروبات المحبة للملوحة والهوائية المتجرّثمة في المنتج بينما أعداد Micrococci ، Staphylococcus ، تكون أقل وهذه تكون المسؤلة عن إنتاج النكهة في المنتج. بالإضافة إلى أن جزء من التحلل الذي يحدث يرجع بدون شك إلى إنزيمات السمك المحللة للبروتين ومع أن درجة الحرارة والحموضة لعملية التخمير تناسب أعداد كبيرة من الميكروبات غير المرغوبة إلا أن درجة تركيز الملح من 30-33% هي التي تعطى صفة الأمان للمنتج.

وهناك أحد منتجات الأسماك المتخمّرة الأخرى يطلق عليه معجون السمك fish paste

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

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

أُستخدِمت بقلويات مختلفة في إنتاج العديد من المنتجات للمتخمرة خاصة في دول شرق آسيا، وتلعب التقاليد وذوق المستهلك دوراً هاماً في إنتاجها حيث أصبحت مكوناً هاماً في الوجبة الغذائية لهذه البلاد وما يشجع إنتاجها أنها تُستخدم كفاتحات شهية ومصدر للبروتين والفيتامينات والطاقة بالإضافة إلى استخدام الخامات الزراعية التي لا تستهلك في الصورة الطازجة لها مثل فول الصويا Soy beans وعجينة الفول السوداني peanut cake وغيرها من البقوليات. وفيما يلي أهم الأغذية المتخمرة التي يُستخدم في إنتاجها فول الصويا.

أولاً : صلصة الصويا : Soy sauce

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

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

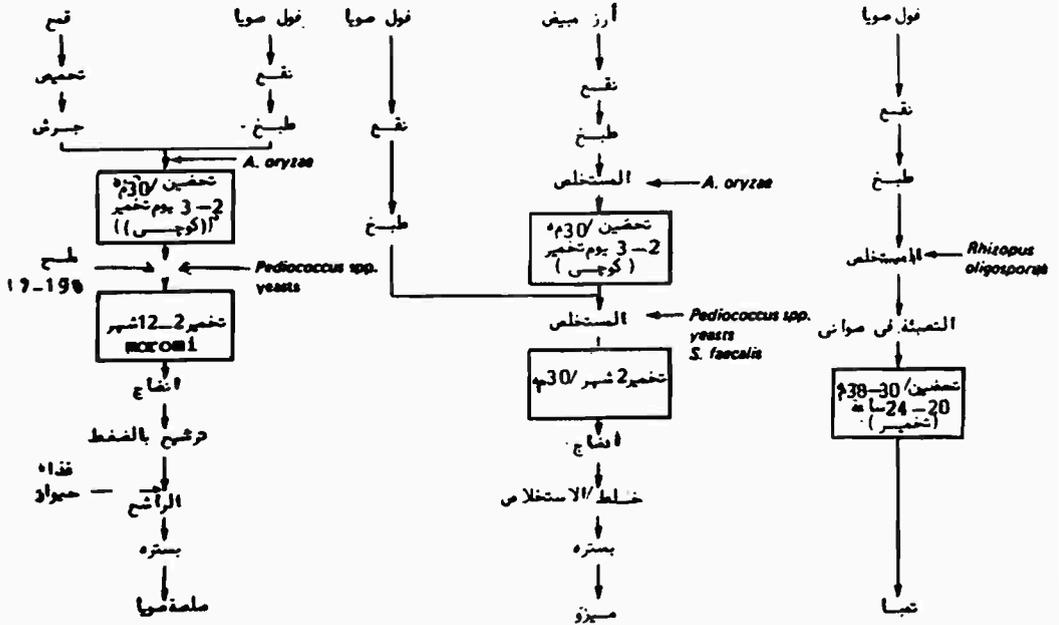
ثانياً : الميزو : Miso

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

ثالثاً : التيمبا : Tempeh

يتم إعداد هذا المنتج عن طريق تخمير فول الصويا منزوع القشور والمطهى جزئياً بواسطة فطر *Aspergillus oligosporus* . وتختلف طريقة إنتاجه من بلد لآخر، ويمثل هذا المنتج مصدراً جيداً للبروتين فى الوجبة الغذائية وبعد نمو الفطر وتحضينه على 30-35 م° لمدة 21-24 ساعة يصبح هذا المنتج فى صورة عجينة ويرتفع الـ pH خلال فترة التخمير من 5 إلى 7.5 ويقطع هذا المنتج إلى شرائح ويغمر فى محلول ملحي ويحمر فى الدهن أو يقطع إلى قطع ويجفف ويستخدم فى عمل الشورية ويؤدى التخمير إلى خفض وقت الطبخ

من 6 ساعات إلى 10 دقائق وذلك على درجة حرارة 100°م بالإضافة إلى إختفاء النكهة المميزة لفول الصويا الخام وترتفع نسبة الفيتامينات خاصة الريبوفلافين ، B₁₂ والنياسين .



شكل رقم 11-22 : رسم تخطيطي لإنتاج بعض منتجات البقوليات المخمرة .

المصدر : Reed, (1982) .

22 - 8 - 7 منتجات أخرى : Miscellaneous products

أولاً: بذور البن : Caffe beans

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

الميكروبات بقدرتها على إفراز إنزيمات محللة للمواد البكتينية ويلاحظ أن الميكروبات في هذه الحالة غير مسؤولة عن النكهة والرائحة.

ثانياً: بذور الكاكاو : Cocoa beans

تستخدم بذور الكاكاو في إنتاج المسحوق المستخدم في إنتاج الشيكولاته بعد إستخلاص البذور من الثمرة ويتم التخمير في صناديق أو تانكات كبيرة لمدة تتراوح من 2-12 يوم تبعاً للنوع والحجم. وخلال مرحلة التخمير يحدث إرتفاع في درجة الحرارة إلى 45-50°م وينفصل سائل يتبع ذلك تجفيف بالهواء أو الشمس ينخفض خلاله المحتوى الرطوبى إلى أقل من 7.5 % ويجرى بعد ذلك تحميص لإنتاج النكهة المميزة للشيكولاته وتتم مرحلة التخمير على مرحلتين الأولى يتم فيها تحويل السكريات من اللب الحامضى (pH 3.6) إلى كحول . والمرحلة الثانية يتأكسد فيها الكحول إلى حامض خليك. ومن نتائج التخمر فى الكاكاو البرازيلى وجد أن الفلورا فى أول أيام التخمير عدد 21م تتكون من خميرة بصفة أساسية وفى اليوم الثالث ترتفع درجة الحرارة إلى 49°م وبالتالي ينخفض عدد خلايا الخميرة بحيث لا يزيد عن 10% من العدد الكلى للفلورا، وبعد سبعة أيام يرتفع الـpH من 3.9 إلى 7.1 ويسبب إرتفاع درجة الحرارة ونقص السكريات القابلة للتخمر وإرتفاع نسبة الكحول ينخفض عدد خلايا الخميرة وتنتج حمض الخليك. بالإضافة إلى حدوث إنخفاض بعض الشئ فى بكتريا حامض الخليك بسبب إرتفاع درجة الحرارة، وعموماً فإن الخميرة وبكتريا حامض الخليك هما أهم الميكروبات المسؤولة عن التخمر. ومن الخمائر المقاومة للحرارة *Candida krusei* وتكون هى السائدة بعد اليوم الثانى. كذلك توجد أعداد كبيرة من *Candida mycoderma* ، *Geotrichum candidum*، وهى تتميز بقدرتها على تحليل البكتين، كذلك يوجد *Heterofermentative lactic*، *Acetobacter spp. acid bacteria* ، وهى المسؤولة عن إنتاج النكهة المميزة للناجح المحمص. وقد وجد أن الإنزيمات الداخلية للخميرة التى تنفرد خارج الخلية بعد حدوث تحلل ذاتى لها هى المسؤولة عن إنتاج المركبات المولدة للنكهة فى الشيكولاته كما أن حمض الخليك يجعل الغشاء الرقيق المحيط بالحبّة منفذاً لإنزيمات الخميرة. كما أن النكهة المميزة لا تظهر إلا بعد عملية التحميص ومن ناحية أخرى فإن التحميص

بدون إجراء عملية التخمير لا يلتج هذه النكهة المميزة .

22 - 9 المواد المضافة للأغذية : Food additiues

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

22 - 9 - 1 الأحماض الأمينية : Amino acids

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

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

أولاً : إنتاج حامض الجلوتاميك : Glutamic acid production

تم إكتشاف خواص النكهة والطعم المميز لجلوتامات الصوديوم فى اليابان مع بداية القرن العشرين. يبلغ الإنتاج العالمى السنوى من جلوتامات الصوديوم حوالى 400 ألف طن والمنتجة بواسطة التخمير عن طريق بكتريا *Corynebacterium glutamicum* حيث من الضرورى توفير مصدر مناسب للنيتروجين مثل أملاح الأمونيوم. ويستخدم المولاس أو المواد النشوية كمواد خام فى الإنتاج التجارى لحامض الجلوتاميك. ويمكن لتلك البكتريا أن تستفيد أيضاً من اليوريا كمصدر للنيتروجين الضرورى لها. ويجب أن يكون مستوى تركيز أيون الأمونيوم مناسب (منخفض المستوى فى وسط التفاعل) حيث أن المستوى العالى من

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

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

ثانياً : إنتاج حمض الليسين : Lysine acid production

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

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

22 - 9 - 2 Vitamins : الفيتامينات :

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

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

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

22 - 9 - 3 Flavors : المنكهات :

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

منكهات طبيعية، وهذا التحول في رغبة المستهلك وكذلك في اتجاه منتجي الأغذية ويرجع إلى التشريعات الدولية التي تحاول الحد من استخدام المنكهات الصناعية في تصنيع الأغذية والمشروبات، وكذلك للتحول العام عن معظم المنتجات الغذائية المصنعة والتي تحتوي على مواد صناعية أو كيميائية والتي بدورها قد تتفاعل أو تتحلل مكونة بذلك مشتقات أخرى.

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

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

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

2- التحول الحيوي Biotransformation وهو يعنى إستخدام الخلايا الميكروبية لعمل تعديل متخصص أو تحول في التركيب الكيميائي .

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

أولاً: المثيل كيتون : Methyl ketone

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

ثانياً: الداي أستيل والأسيتالدهيد : Diacetyl and Acetaldehyde

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

ثالثاً : اللاكتونات : Lactones

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

رابعاً: الأسترات : Esters

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

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

خامساً : البيرازينات : Pyrazines

هي المسؤولة عن نكهات التحميص للنقل والأغذية المسخنة، وهذا ما يجعل إقتراح إضافتها إلى الأغذية المطهية في الميكروويف والتي تفتقد لإنتاج مثل هذه النكهات خلال عملية التسخين. وتنتج البيرازينات من البكتريا مثل *Bacillus subtilis* حيث لها القدرة على إنتاج الـ TMP (تتراميثيل بيرازين). وكذلك يمكن إنتاج الـ MIPP (ميثيل إيسوكسي أيسوبروبيل بيرازين) باستخدام سلالة الـ *Corynebacterium glutamicum*.

سادساً : المركبات العطرية : Aromatic Compounds

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

سابعاً : النيكلوسيدات : Nucleosides

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

22 - 9 - 4 الصبغات : Production of pigments

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

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

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

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

22 - 10 الإنزيمات : Enzymes

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

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

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

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

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

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

1- السرعة والثبات فى الإنتاجية وتضاعف فى كمية الإنتاج وأمان فى النظام التخمرى مع إنخفاض فى التكلفة الإقتصادية.

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

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

وهناك العديد من الشروط التى يجب توافرها فى الكائن الحى الدقيق المستخدم كمصدر

للحصول على الإنزيمات وهى :-

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

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

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

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

عملية التخمير : Fermentation process

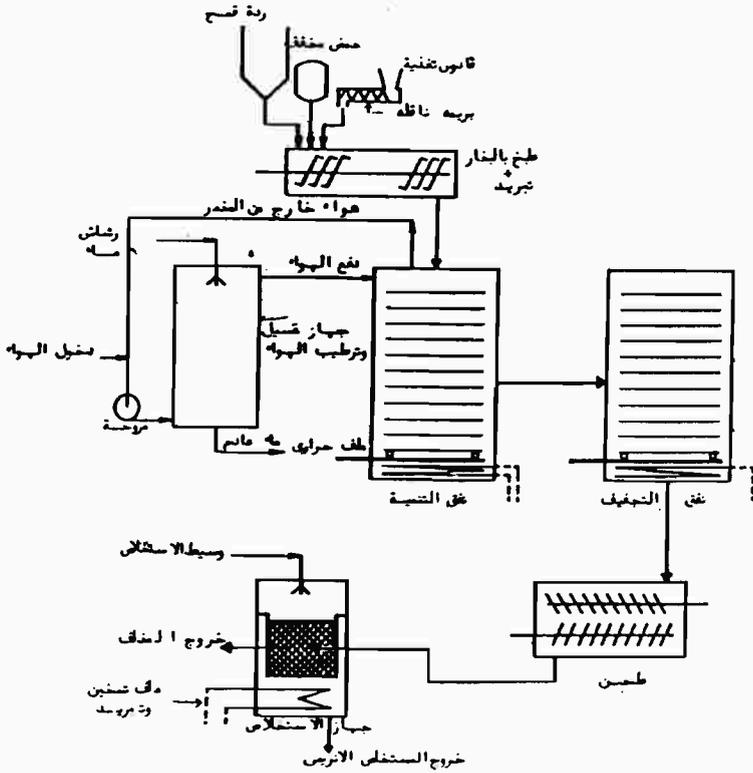
تنتج الإنزيمات الميكروبية بعدة طرق ويتوقف إختيار الطريقة على نوع الميكروب المستخدم (بكتريا أو فطر) ونوع الأنزيم المنتج لتكرينى (أساس) constitutive أو محفز [inducible] هذا بالإضافة إلى نوع المادة الخام المستخدمة فى الإنتاج (صلبة أو سائلة).

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

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

الخلايا بينما توجه المرحلة الثانية لإنتاج الإنزيم.

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



شكل رقم 22 - 12: رسم تخطيطي لإنتاج الإنزيمات بالطريقة السطحية (الصواني)

المصدر : Reed , (1982) .

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

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

وتتواجد الإنزيمات البكتيرية فى العديد من النباتات والكائنات الحية الدقيقة وتنتج تجارياً من مصادر ميكروبية خاصة الفطريات، وتستخدم البينات السطحية والمزارع المغمورة بطريقة الدفعات batch method باستخدام ميكروب الـ *Aspergillus niger* فى وجود 2% سكروز و 2% بكتين وتستغرق عملية التخمير من 60 - 80 ساعة عند درجة pH 3-4 ودرجة حرارة 37° م . ويستخدم مخلوط الإنزيمات المحللة للبكتين pectinases فى إستخلاص وترويق وتحسين لون بعض العصائر المستخلصة من ثمار الخضر والفاكهة.

ومن التطبيقات الرئيسية لإنزيم الكتاليز فى التصنيع الغذائى هو التخلص من H_2O_2 المستخدم فى عمليات التعقيم على البارد كما يستخدم لإزالة المتبقى من H_2O_2 المستخدم فى عمليات تبيض الأنسجة، ويوجد إنزيم الكتاليز فى جميع الكائنات الحية الدقيقة الهوائية . وفى الولايات المتحدة الأمريكية وأوروبا فإن المعاملة بـ H_2O_2 بدلاً من المعاملة الحرارية محددة فقط فى صناعة الجبن ولو أنها فعالة جداً لخفض أعداد الميكروبات المرضية.

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

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

المستخرج من معدة العجول الرضيعة. وحالياً يتم استخدام الإتحادات الوارثية لنقل والتعبير عن جين calf rennet داخل الكائنات الدقيقة مثل الـ *E. coli* والتي يمكن استخدامها لإنتاج الإنزيم اللازم لصناعة الجبن ويكون له نفس خصائص calf rennet تماماً. ولهذا يمثل المصدر الميكروبي للإنزيم مصدر مستمر للإنتاج بالإضافة إلى أنه يقلل من الإحتياج لنبح العجول الرضيعة.

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

وبصفة عامة فإن الإنزيمات الخارجية توجد في البيئة لذلك تكون عمليات الاسترجاع للحصول على الإنزيم النقي عمليات بسيطة مثل الطرد المركزي والترشيح أو التبخير تحت ضغط أو الترسيب للبروتينات. أما الإنزيمات الداخلية الموجودة داخل الخلايا فلا بد من استخدام طرق ميكانيكية وفيزيائية مثل التجنيس تحت ضغط عالي لتحطيم جدر الخلايا وكذلك يمكن استخدام عملية التحليل الذاتي autolysis لتكثير جدر الخلايا ولكن هذه الطريقة لا تستخدم على النطاق التجاري. وتؤدي تكاليف عمليات الفصل والتنقية للحد من استخدام الإنزيمات الداخلية في العمليات التجارية. ويمكن من خلال عمليات تنقية الإنزيمات الداخلية التخلص من البروتينات المصاحبة باستخدام كبريتات الأمونيوم أو الصوديوم وفي حالة الإنزيمات المقاومة حرارياً يمكن ترسيب البروتينات المصاحبة لها بالحرارة كذلك يمكن استخدام المذيبات العضوية مثل الكحولات لترسيب البروتينات في العمليات التجارية. ويمكن استخدام عملية الترشيح الدقيق ultra-filtration بكفاءة لتركيز محلول الإنزيم أكثر من عمليات التبخير تحت تفريغ vacuum evaporation. وعموماً في الماضي كل

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

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

22 - 11 الكيماويات الصناعية : Industrial chemicals

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

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

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

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

22 - 11 - 1 إنتاج الإيثانول : Ethanol production

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

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

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

ويتم إنتاج الكحول عن طريق التخمير بعدة نظم :

1- نظم الخلايا الحرة free cell systems وتضم طريقتين :

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

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

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

النظام عن التقنيات الأخرى من عدة نواحي من أهمها : الحفاظ على حيوية الخلايا - إمكانية استخدام تركيز عالي من الخلايا - سرعة معدل التفاعل - خفض مخاطر التلوث الميكروبي - إمكانية إعادة تنشيط هذا النظام هذا بالإضافة إلى بساطته وإنخفاض التكلفة .

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

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

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

- تكسير السكريات السداسية إلى بيروفات وأستيل CoA .

- تكوين الأوكسال أسيتات من البيروفات وثانى أكسيد الكربون .

- تراكم السترات خلال دورة tricarboxylic acid .

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

يتكون حامض البيوتيريك والبروبيونيك .

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

22 - 11 - 6 إنتاج الجليسرول : Glycerol production

استخدم التخمر في إنتاج الجليسيرول أثناء الحرب العالمية الأولى والثانية، حيث تنتج كميات كبيرة من الجليسيرول عن طريق التخمر الكحولي بواسطة الخميرة . وأثناء تحول الأسيئالدهيد إلى إيثانول يحدث إنتاج للـ $NADH^+$ وكذلك بروتونات H^+ نتيجة تحول الجليسيرالدهيد - 3 - فوسفات إلى حمض 3.1 داي فوسفوجليسيريك، وعند إضافة بيسلفيت الصوديوم sodium bisulfite يتكون الـ acetaldehyde - sulphite بالإضافة إلى الـ $NADH^+ + H^+$ والذي يعمل على إختزال الـ dihydroxyacetone phosphate إلى glycerol phosphate والذي يتحول إلى جليسيرول وتكون المحصلة لإنتاج الجليسيرول 30% وتستغرق فترة التخمر من 2 - 3 أيام .

22 - 11 - 7 إنتاج السكريات العديدة : Microbial polysaccharides

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

ومن أهم الميكروبات المستخدمة لإنتاج بعض السكريات العديدة هى :

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

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

ويعتبر صمغ الزانثان من أهم الصور للسكريات العديدة التى يتم الحصول عليها ميكروبياً. وهذا الصمغ له لزوجة عالية ويظل ثابت عدد درجات pH مختلفة ودرجات حرارة مختلفة وعدد خلطه بالسكريات العديدة النباتية المنشأ يمكن الحصول على حل ثابت وله خواص بلاستيكية جيدة ويستخدم كمادة مشحمة. والـ pH المناسب لإنتاج الزانثان هو 7 درجة pH والدرجة المناسبة لنمو الميكروب المستخدم فى الإنتاج هى 5.5 pH ويزيادة الإنتاجية تزداد لزوجة البيئة وهذا يتطلب الإهتمام بتصميم المخمر.

22 - 12 المنتجات ذات القيمة العلاجية : Health care products

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

22 - 12 - 1 المضادات الحيوية : Antibiotics

المضادات الحيوية عبارة عن منتجات أيض ثانوية لبعض الكائنات الحية يمكنها بتركيزات منخفضة تثبيط نمو كائنات حية أخرى. وتعتبر ملاحظة الكسندر فلمنج Alexander Fleming عام 1929 أولى الملاحظات عن دور هذه المواد الهامة حيث لاحظ أن نمو البكتريا العنقودية يذبطها فطر *Penicillium notatum* ، ولقد أدت هذه الملاحظة فيما بعد إلى إنتاج البنسلين ليبدأ عصر المضادات الحيوية، وفى وقتنا الحالى يوجد أكثر من 6000 مادة معروفة بأثرها كمضاد حيوى. وهناك حوالى 100 نوع من المضادات الحيوية يتم إنتاجها بالتخمير بينما هناك حوالى خمسون مركباً يتم إنتاجها بطريقة نصف تخليقية لإستخدامها فى العلاج كمضاد حيوى. وتصل الكميات المنتجة من المضادات

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

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

إنتاج البنسلينات : Pencilins production :

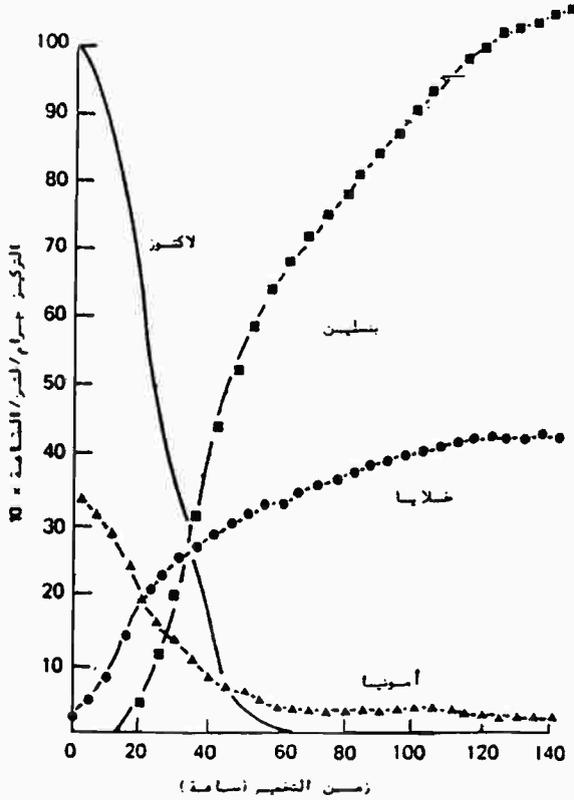
التركيب الأساسي لهذه المجموعة هو (6 - APA) 6- amino penicillic acid وهو مكون من حلقة thiazolidine متداخلة مع حلقة β -lacton ويلاحظ أن الوضع 6- amino position يمكن أن تحدث منه عدد من إستبدال لمجاميع الأسيل Acyl . ففي غياب أى إضافات لمولدات السلاسل الجانبية في بيئة التخمر يتكون خليط من البنسلينات الطبيعية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

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

دولية / مل أو ما يعادل 1.2 ملليجرام / مل. أما سلالة (*P. chysogenum* (NRRL-1951) التي عزلت عام 1943 وهي سلالة كانت أكثر ملائمة للإنتاج بطريقة المزرعة المغمورة من المزرعة الأولى، هذه السلالة رفعت الإنتاج إلى 120 وحدة / مل. أما طفرة وسكنسن الشهيرة الناتجة عن هذه السلالة الأخيرة (wis Q 176) فإنها أعطت 900 وحدة دولية / مل. ولقد استخدمت تقنيات أشعة أكس والأشعة فوق البنفسجية وعدد من المطفرات الكيماوية في إنتاج سلالات جديدة. ولقد أدت برامج تطوير السلالات وتطوير عمليات التخمير إلى الوصول بمعدل إنتاج البنسلين إلى 85 000 وحدة دولية / مل أو ما يعادل 50 جرام / لتر. ويعتبر ضبط تركيز اللقاح بالجراثيم وتكون تكتلات لهيفات غير منضغطة أثناء مرحلة النمو الخضري ضروريين للوصول إلى أعلى إنتاج من البنسلين. وأثناء التخمير يتم تضاعف الكتلة الحية Biomass كل 6 ساعات، ومن مشاكل التخمير عدم ثبات السلالة مما يتطلب ضبطاً مستمراً لعملية المحافظة على السلالة. والظروف المثلى لإنتاج البنسلين يتضمن استخدام نظام تغذية الدفعة Fed . Batch في التخمير باستخدام بيئة منقوع الذرة Corn steep وأملاح معدنية ومصدر للكربون مثل الجلوكوز واللاكتوز أو المولاس، ويمثل منقوع الذرة مصدراً جيداً للنيتروجين حيث أنه يحسن من إنتاج البنسلين نظراً لإحتوائه أيضاً على مولدات السلاسل الجانبية. ويلاحظ أن إضافة مصادر للسلاسل الجانبية يمكن من استخدام مصادر للنيتروجين خلاف منقوع الذرة. ويعتبر تثبيت مستوى الأمونيا أثناء التخمير ضرورياً لمساعدة الفطر على التنفس ويمنع تحلل الميسيلوم كما أنه ضروري لإنتاج البنسلين. ويتم ضبط الـ pH أثناء التخمير عند 6.5 كما يتم الإمداد المستمر بحامض الفيديل لاكتيك أو الفيديل خليك كمولدات.

ويعتبر مستوى الإمداد بالسكر والأكسجين هاماً جداً للتخمير، وخصوصاً أن مستوى الأكسجين يعتبر عاملاً حرجاً نظراً للزوجة الزائدة لبيئة التخمير والذي يؤثر على إنتقال الأكسجين. وتتطلب عملية التخمير إلى 0.4 - 1.0 مليمول أكسجين لكل لتر لكل دقيقة ويصل الـ R.Q (مول CO_2 يتكون / مول أكسجين مستهلك) إلى 0.95. ويوضح شكل رقم 13-22 مثال تخطيطي للمكونات المستهلكة والمواد الناتجة من التخمير. وعملية التخمير الصناعي تتميز بمعدل النمو العالي لمدة يومين، ثم ينخفض معدل النمو ويزداد معدل تكوين البنسلين

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



شكل رقم 13 - 22 : إنتاج البسلين بواسطة التخمر

المصدر : Ward (1989).

إنتاج التتراسيكلينات : Tetracyclines production

التركيب الأساسي للتتراسيكلينات هو حلقة naphthacene والتتراسيكلينات ذات الأهمية الطبية الناتجة بالتخمر أو بطريقة نصف تخليقية تختلف في عمليات الاستبدال على الحلقة. وتعتبر الكلوروتتراسيكلين Chlorotetracycline والأكسيتتراسيكلين Oxytetracycline هي المركبات الأساسية التي ينتجها الجنس *Streptomyces* بينما التتراسيكلين فإنه عادة ما ينتج بكميات قليلة. أما طفرات الـ *Streptomyces aureofaciens* التي لا تستطيع الكلورة

Block the Chlorination فإنها تكون التتراسيكلين كمركب أساسي.

تعتبر عملية تخليق الكلوروتتراسيكلين عملية معقدة تتضمن 72 مركب وسطي ويحكم عملية التخليق الحيوي أكثر من 300 جين. المعدل الحالي لإنتاج التتراسيكلينات هو 20000 ميكروجرام لكل مل ونظراً لتعدد مسار تخليق هذه المركبات فإن الطريق الأساسي لتحسين الإنتاج هو تكوين الطفرات والانتخاب. ويتم إنتخاب سلالات تستطيع تحمل التركيز العالي من المضاد الحيوي وذلك لتحسين الإنتاج.

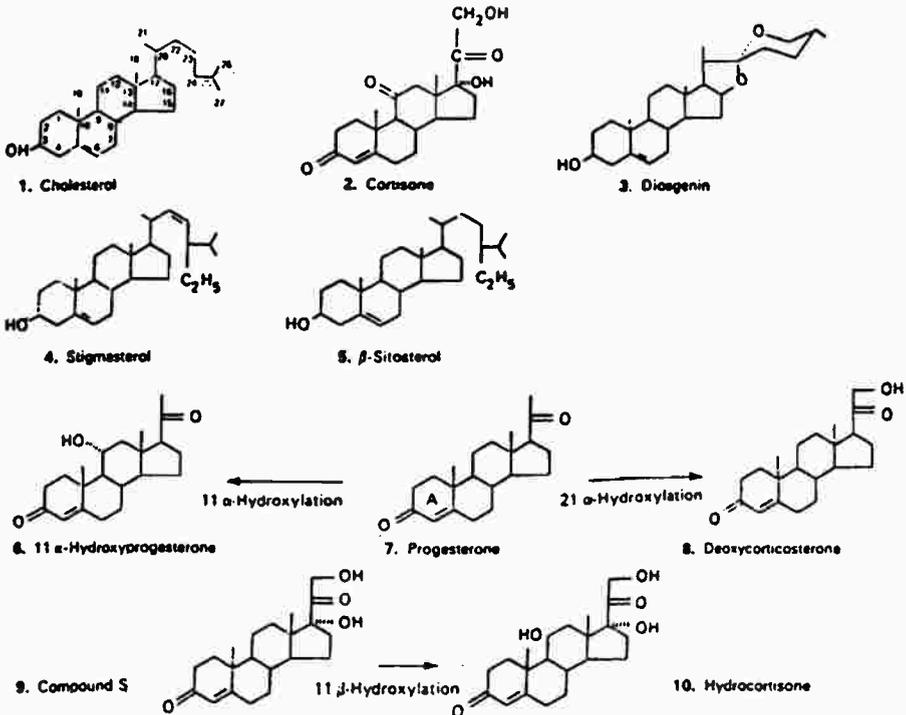
وتتكون بيئة التخمر من السكروز ومنقوع الذرة وفوسفات الأمونيوم والأملاح المعدنية ويتم الإنتاج عند pH 5.8 - 6.0. وعند درجة حرارة 28° م. ويتطلب الإنتاج معدل تهوية عالية خصوصاً في مرحلة تنمية وإنتاج خلايا الميكروب. ويلاحظ أنه إذا استخدم الجلوكوز في البيئة فإنه يجب أن يضاف بطريقة التغذية المستمرة. ونظراً لأن الفوسفات يثبط تكوين التتراسيكلين فإن عملية التخمر تتم في ظروف نقص للفوسفات.

وعند إنتاج الكلوروتتراسيكلين بطريقة المزرعة للمغمورة فإن عملية التخمر تنقسم إلى ثلاثة مراحل. تتميز المرحلة الأولى بتكوين سريع للكتلة الحيوية وبالتالي إستهلاك عالي للمواد الغذائية، ويتميز الميسليوم في هذه المرحلة بتكوين هيفات سميكة محبة للقاعدية قاعدية التأثير مرتفعة في نسبة الـ RNA. وفي المرحلة الثانية يقل معدل النمو وقد يتوقف ويحدث أعلى معدل لإنتاج المضاد الحيوي، ويحدث اللصق والتمييز للميكروب وتظهر الهيفات رفيعة وتنخفض نسبة الـ RNA فيها. وفي المرحلة الثالثة ينخفض تكوين المضاد الحيوي ويحدث تجزء للميسيليوم fragmentation ويبدأ في التحلل.

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

Steroids : 2 - 12 - 22

يتم إنتاج العديد من الستيرويدات بطرق تدخل عمليات التخمر في بعض خطواتها - ويوضح شكل رقم 14-22 بعض هذه المركبات وبعض الخطوات الخاصة بتحويلاتها البيولوجية، وتلعب الستيرويدات دوراً هاماً في علاج بعض الأمراض والإصابات. وفي الأربعينات من القرن العشرين أمكن استخدام الكورنيكوستيرويدات Corticosteroids والكورتيزون Cortisone والكورتيزول Cortisole (هيدروكورتيزون) بنجاح في علاج الأمراض الإلتهابية وأمراض الحساسية. وبالتالي درست عديد من المركبات النباتية والحيوانية لإمكانية استخدامها كأساس لبناء هذه المركبات، ولقد أوضحت الدراسات أن هذه المركبات لا يمكن إنتاجها من الكوليستيرول. بينما ظهر أن الـ diosgenin (من جذور نبات barbasco) والـ Stigmasterol (من زيت فول الصويا) يمكن أن يمثل مواد مناسبة لإنتاجها في تخليق البروجيستيرون والبريجينيولون pregnenolone على التوالي.



شكل رقم 14 - 22 : التركيب الكيماوي لبعض الستيرويدات وتحويلاتها الحيوية

المصدر : Ward (1989).

والتقدم الحقيقي في مجال استخدام النشاط الميكروبي في إنتاج الإسترويدات هو ذلك الذي قام به Hurray & Peterson عام 1952 حيث أمكنهم تحويل البروجيستيرون إلى $11-\alpha$ -hydroxyprogesterone وذلك باستخدام فطر *Rhizopus arrhiza* وتلى ذلك إكتشاف عديد من عمليات التحول الميكروبي المحدثه لتغييرات في مواضع مختلفة في جزيئات الإسترويدات . ومن بين التغييرات في الإسترويدات التي تلعب فيها الميكروبات دوراً هاماً هي 11 -hydroxylation ، 16 - α -hydroxylation ، 1 -hydrogenation .

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

22 - 12 - 3 فلاويدات الإرجوت : Ergot alkaloids

لبعض هذه المركبات العديد من الإستخدامات العلاجية علاء تنقيتها واستدامها بجرعات متحكم فيها من بينها علاج الصداع النصفي Ergotamine ونزف ما بعد الولادة ergometrine ومركبات الإرجوت التي تكونها سلالات مختلفة من العفن *Claviceps* وهو فطر أسكى *Ascomycete* الكثير منها يعتبر سموم فطرية والتركييب الأساسي لهذه المركبات يتكون من d -lysergic acid أو مشابهة الفراغي d -isolysergic acid مرتبط بببتيد ثلاثي الحلقات Tricyclic peptide أو كحول أميني بواسطة رابطة أميد $amide\ bond$.

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

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

22 - 12 - 4 المنتجات الميكروبية بإستخدام الهندسة الوراثية :

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

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

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

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

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

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

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

22 - 12 - 5 الفاكسينات : Vaccines

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

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

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

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

تستخدم طرق عديدة لإنتاج الفاكسينات منها ما يلى :

أولاً - الخلايا الميكروبية :

يتم إنتاج الخلايا المستخدمة فى إنتاج الفاكسينات عادة بطريقة المزارع المغمورة فبكتريا السعال الديكى whooping cough وهى *Bordetella pertussis* يتم تنميتها فى بيئة مكونة من كازين متحلل بالحامض Acid hydrolyzed casein وأملاح معدنية وعوامل نمو ويتم الاحتياط من تعرض العاملين أثناء التخمر لخطر الإصابة وذلك عن طريق حصاد الخلايا بالترسيب بالحامض حيث تترسب الخلايا بسرعة عند خفض الـ pH إلى 4.0 . ثم يتم قتل الخلايا إما بالحرارة أو كيميائياً أو بهما معاً للحصول على الفاكسين . وبالمثل يتم إنتاج بكتريا التيفود *Salmonella typhi* باستخدام بيئات مكونة من مصدر نيتروجين معقد وجلوكوز . ويتم فصل خلايا التيفود وإفقادها حيويتها بعمل معلق منها فى الأستيون لمدة 24 ساعة على 37° م .

ثانياً - التوكسينات البكتيرية : Bacterial toxins

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

معقدة بطريقة المزرعة المغمورة حيث تنمو الخلايا وتفرز التوكسين ويعتبر مستوى الحديد فى البيئة عاملاً هاماً فى إنتاج التوكسين بينما يؤدي زيادة تركيز الحديد عن حد معين إلى تثبيط تكوين التوكسين. ويمثل التوكسين نسبة تصل إلى 75 من البروتين تفرزه الخلايا خارجياً ويتم تثبيط الأثر الضار للتوكسين لإستخدامه فى إحداث المناعة بمعاملته بالفورمالدهيد ويتحول إلى توكسويد Toxoid وذلك دون إفتقاده أثره المناعى. ويلاحظ أن التخلص من الشوائب من التوكسين يتم بمعاملته بالميثانول فى الوسط الحامضى ثم تجفيفه أو أن يتم ذلك بالفصل الغشائى dialysis ثم الفصل على الجىل gel filtration وإستخدام الفصل الكروماتوجرافى بإستخدام DEAE - cellulose.

ثالثاً - الفاكسينات الفيروسيّة :

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

ويتم إنتاج فاكسين شلل الأطفال من خليط من ثلاث سلالات مرضية تم تلميتها فى مزرعة نسيجية من خلايا كلية القرد أو خلايا إنسانية ثنائية الكروموسوم deploid (أى خلايا جسمية)، ويتم إفتقاده الفيروس حيويته بإستخدام الفورمالدهيد، وبالنسبة لفيروسات الحصبة والنكفية والحمى الصفراء والجدري فإنها تلمى على أجنة الدجاج ثم يتم ترويضها وإفتقادها قدرتها الإمراضية قبل إستخدامها حية فى إحداث المناعة. وأمکن أيضاً إنتاج سلالتين من فيروس الأنفلونزا بتلميتها على أجنة الدجاج ثم تقتل بالفورمالدهيد ... الخ .

رابعاً : إستخدام بعض مكونات الخلية (أنتيجينات معزولة) :

Isolated antigen vaccines (subunit vaccines)

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

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

خامساً : استخدام الهندسة الوراثية فى إنتاج الفاكسينات

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

22 - 12 - 6 الأجسام المضادة Antibodies

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

References المراجع 13 - 22

- Ayres , J. C., J. O. Mundt, and W. E. Sandine, 1980. Microbiology of foods. W. H. Freeman and company sanfrancisco.
- Berry , D. R., I., Russell and G. G. Stewart, 1987. Yeast Biotechnology. Allen & Unwin, London, Boston, Sydney.
- Brock, T. D., M. T. Madigan, J. M. Martinko, and J. Parker, 1994. Biology of Microorganisms. Prentice Hall, Englewood cliffs, New Jersey.
- Campbell - Platt, G. 1987. Fermented foods of the world. Butterworth.London. Boston. Toronto.
- Jay, J. M. 1986. Modern Food Microbiology. thirdedition D. Van Nonstrand company.
- Peppler, H. J. 1979. Production of yeasts and yeast products. In Peppler, H.J. and Perlman D. (ed): "Microbial Technology, vol. 1", Academic Press Inc., Orlando, Fla.
- Reed,G., (1982). Industrial Microbiology. Avi Publishing companing, INC. Westport. Connecticut.
- Riviere, J.; M. O. Moss, and J. E. Smith, 1977. Industrial Applications of Microbiology. Surrey University Press in association with International Textbbok company.
- Stanton, W. R., E. J. Dasilva, 1978. Global Impacts of Applied Microbiology. Unep / Unesco / ICRO. Panel of Microbiology Secretarial Kuala Lumpur Malaysia.
- Stanbury, P. F., and A. Whitaker 1984. Principles of Fermentation Technology. Pergamon Press, Oxford, Newyork, Paris, Frankfurt.
- Ward, O. P.1989. Fermentation Biotechnology Principles, Processes and Products. Johnwiley and Sons. London.