The Synthetic Microorganism

University of Anbar

تأريخ تطور الاحياء المجهرية الصناعية

المرحلة الاولى :

- ✓ قبل عام 1900 تميزت هذه المرحلة بانتاج مختلف أنواع المواد الغذائية كالالبان والحوامض العضوية كالخل والمنتوجات الاخرى , ولم يكن معروفا آنذاك المسالك البايلوجية أو المسببات لتلك المنتجات 0

المرحلة الثانية :

- ✓ كانت من عام 1900 - 1940 تميزت بانتاج مواد جديدة كحامض اللاكتك وخميرة الخبز والكليسيرول , وكانت هذه المرحلة بداية السيطرة على بعض ظروف الانتاج كدرجة الحرارة والرقم الهيدروجيني 0

المرحلة الثالثة :

- ✓ كانت من عام 1940 - 1960 تميزت هذه المرحلة باكتشاف البنسلين وفي وقت لاحق إنتاج مواد مختلفة كبعض الانزيمات والفيتامينات والاحماض الامينية , تحت السيطرة على ظروف الانتاج بظروف ميكانيكية أو أوتوماتيكية 0

المرحلة الرابعة :

- ✓ كانت من عام 1960 - 1979 تميزت :
  - بإنتاج بروتين أحادي الخلية واستعماله كعلف للحيوانات 0
  - واستعمال مزارع بحجوم كبيرة 0
  - وبداية استعمال طرائق الهندسة الوراثية 0

المرحلة الأخيرة :

- ✓ كانت من عام 1979 ولحد الآن تميزت بإنتاج مركبات لا تنتج بشكل طبيعي بواسطة الأحياء المجهرية كالإنسولين , والأنترفيرون وخصوصا بعد تطور الهندسة الوراثية الناتج عن جهاز معرفة تتابع الشفرات DNA Sequenses وجهاز بلمرة الجين PCR وبالتالي أمكن إدخال مورثات غريبة معزولة من أحياء الى أحياء أخرى (هندسة وراثية متطورة) 0

محاور الصناعية (لها ثلاث محاور)

1. المحور الأول : الميكروب
2. المحور الثاني : الوسط الزرعي
3. المحور الثالث : عزل المنتوج أو المنتوج

المحور الأول : الميكروب

- ✓ لكل عزلة مسار يختلف عن مسار العزلة الأخرى 0
- ✓ هناك مسالك عديدة لتحول الكلوكوز الى مسالك أخرى وبالتالي ينتج مركبات متعددة وبالتالي إنتاج مواد مختلفة ومن هذه المسالك :

1. مسلك EMP

- يوجد في حقيقية النواة وعدد كبير للأحياء اللاهوائية واللاهوائية الإختيارية الميكروبية 0

$$G_{c6} \longrightarrow G_{c6}p \longrightarrow F_{c6}p \longrightarrow pFp \longrightarrow \begin{matrix} \text{Dihydroxyaceton p}_{c3} \\ \text{Glyceraldehyde p}_{c3} \end{matrix} \longrightarrow 2(\text{Phospho Glycerate})_{c3} \longrightarrow 2(\text{Phospho Enole Pyruvate}) \longrightarrow 2\ \text{Pyruvate}$$

- وخلاصة هذا المسار :

$$\text{Glucose} + 2ADP + 2Pi + 2NAD^{+} \longrightarrow 2\text{Pyruvic Acid} + 2NADH + 2\ ATP$$

- دورة كربس متشابهة في كل الأحياء 0

2. مسلك Enter Doudoroff Pathway

- تشتهر به الكثير من البكتريا الهوائية الحقيقية كأنواع *Pseudomonas* , وهو المسلك الثاني لتحويل الكلوكوز الى بايروفك أسد :

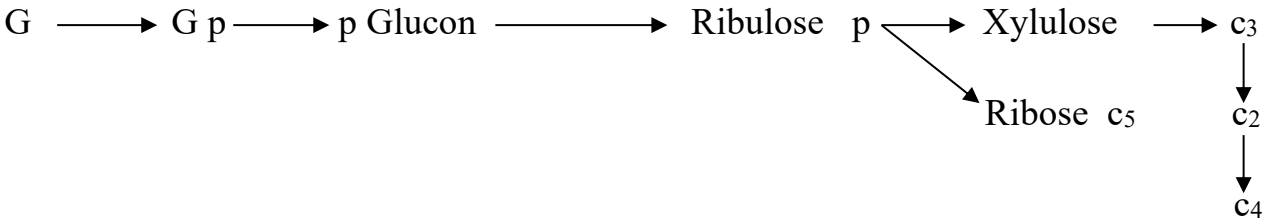
$$G \longrightarrow Gp \longrightarrow p\ \text{glycon}_{c6} \longrightarrow \begin{matrix} \text{Pyruvate} \\ \text{Glyceraldehyde p} \end{matrix}$$

- الفرق هو بالمعادلة العامة لأن المركبات هي واطئة الطاقة فلا تخزن على شكل 0 ATP

$$\text{Glucose} + ADP + Pi + 2NAD^{+} \longrightarrow 2\text{Pyruvic Acid} + 2NADPH + ATP$$

- تركيب glycon يتكون من 6 ذرات كاربون فمجرد إنشطاره يعطي Pyruvate (جزء منه يشبه Pyruvate)

3. مسلك Pentose Phosphate Pathway



بروتين أحادي الخلية Single Cell Protein (S. C. P)

- نحتاج الى كائن يتكاثر سريعاً , وأن يكون الكائن مشهور بهذا المسلك أو المسار دون غيره من المسالك , والتكاثر السريع يحتاج الى Nucleotide (DNA)

- الأحياء النشطة بالتكاثر تحتاج تنوع بالكاربون وطاقة فهي بذلك تحتاج المسارين (2 و 3)

نواتج الاحياء المجهرية الصناعية

- أول شكل من أشكال الإنتاج هو "الكتلة الحيوية" , هي الزيادة في الكتلة , أي الزيادة الناتجة من التكاثر , إذن الهدف هو تكاثر الميكروب 0
- من أشكال الكتلة الحية هو "خميرة الخبز" و "بروتين أحادي الخلية" 0
- وثاني شكل من أشكال الكتلة الحيوية "الأنزيمات" , وهي ضرورية في مختلف الصناعات وتستخدام الأحياء المجهرية في إنتاج الأنزيمات 0
- ثالث شكل هو "منتوج مرتبط بحسب الطور" :

1. منتجات الأيض الأولي :
   - ✓ مثل بعض الأحماض الأمينية والنووية والكاربوهيدرات مثل حامض الستريك 0
   - ✓ سميت منتجات الأيض الأولي لأنها تنتج في طور التكاثر Log Phase 0
2. منتجات الأيض الثانوي :
   - ✓ من أهمها المضادات الحيوية وبعض السموم 0
   - ✓ سميت منتجات الأيض الثانوي لأنها تنتج في طور الإستقرار Stationary Phase 0

- رابع شكل هو هو استعمال الأحياء المجهرية في التحولات الحيوية Bioconvertion يقصد بها تحويل مركبات مضافة الى الوسط الزرعي الى مركبات ذات مستوى متطور أعلى (أكثر عدد ذرات كاربون) أو أوطأ (أقل عدد ذرات كاربون) 0

المحور الثاني : الوسط الزرعي

أنواع المزارع :

1. ذات النظام المغلق :
   - ✓ يمر الكائن المجهري بجميع الأطوار لذلك نلاحظ الوسط الزرعي كمية قليلة من المادة المنتجة في ذلك الطور , لأن الفترة الزمنية قليلة فخلال 20 دقيقة يمر بجميع المراحل في طور :

     Lag Phase , Log Phase , Stationary Phase , Decline Phase
2. ذات النظام المفتوح أو المستمرة :
   - ✓ الكائن المجهري يكون بطور واحد فقط فكل محتويات الوسط الزرعي تتوجه للبناء في ذلك الطور 0
3. المزرعة المتدرجة :
   - ✓ يتم إضافة الوسط بكمية عالية ثم يغلق وبشكل متكرر وبالتالي الحصول على تكرار للطور المتحول 0

كيفية السيطرة على نظام المزرعة المفتوح

أ- السيطرة الكيمياوية :

وذلك يتم من خلال السيطرة على تركيز المادة الناتجة أو تركيز المادة الغذائية الباقية في الوسط الزرعي 0

ب- السيطرة من خلال العكورة :

وذلك من خلال مراقبة الكثافة الضوئية للمزرعة بصورة مستمرة وبطريقة أوتوماتيكية 0

حفظ وخزن الأحياء المجهرية

الحفظ :

- هو تقليل سرعة الفعاليات الأيضية وبالتالي يحد من التكاثر وذلك يتم بتحديد تركيز المواد الغذائية أو تحديد الظروف الفيزياوية المحيطة كالأوكسجين ودرجة الحرارة وحتى الأوزموزية 0

مكونات المزرعة :

- تتكون من لقاح ميكروبي يمتاز بإنتاج المنتوج باستعمال الوسط المتوفر وبالظروف المتاحة 0

هناك شروط يجب توفرها "بالسلالة الصناعية" لإنتاج منتوج رخيص الثمن وخالي من الفضلات , فهي يجب أن تكون :

1. ذات تغذية بسيطة 0
2. وإنتاجية عالية 0
3. وظروف تنميتها بسيطة 0
4. ومستقرة وراثيا 0
5. وذات منتوج خالي من الفضلات (وكل هذه الشروط تكون قدر المستطاع)

تحسين إنتاجية سلالات الأحياء المجهرية الصناعية

- لغرض التوليف بين متطلبات صناعة المنتجات باستعمال الأحياء المجهرية يجب إستعمال أو الإستفادة من الخصائص الفسلجية والوراثية معا بحيث تكمل إحداهما الأخرى 0
- إن التغيرات الوراثية قد تؤدي الى إرتداد في القابلية الإنتاجية للمزرعة أو قد تؤدي الى الحصول على سلالات ذات إنتاجية عالية لمنتوج ما 0
- إن الإنتاجية العالية للسلالات تنتج من تحوير في بعض المسارات الأيضية التي تتحول بموجبها المادة الأساس الى المادة المطلوبة 0
- مثلاً :

إستعمال بكتريا حامض اللاكتك : يتم حضن البكتريا بدرجة 27 م لإنتاج مادة Anti bacterial ضد مايكروبية تدعى بكتريوسين 0

في حالة الحضن بدرجة 35 م ستتوجه محتويات الوسط بمسالك تنتهي بإنتاج الحامض بدل من إنتاج هذه المادة 0

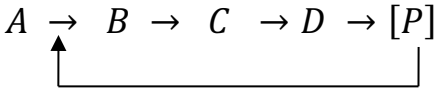
- وكذلك تحوير آلية السيطرة التي تحدد مستوى الإنتاج لإن الكائن المجهري لا ينتج مادة إلا ضمن حاجته (المتواضعة)

- ولا يتم فهم هذه المعلومات إلا بعد فهم الأنظمة الخاصة في السيطرة على التغذية الإسترجاعية (الكبح) Feed Back Control
- هناك مجموعتان من هذه الأنظمة Feed Back Control

1. تثبيط التغذية الإسترجاعية Feed Back Control inhibition
2. كبح (كبت) التغذية الإسترجاعية Feed Back Control repression

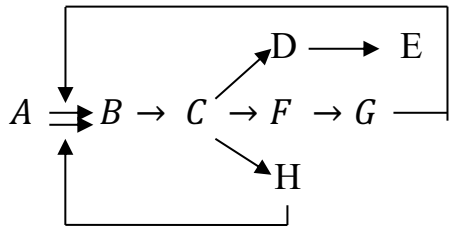
الفرق بين الإثنين :

- ☒ يحدث التثبيط عندما يصل تركيز الناتج النهائي الى مستوى معين (كافي بالنسبة للخلية) فتعمل هذه النواتج على تثبيط فعالية أحد الأنزيمات التي تساعد في إتمام إنتاج هذا المنتوج وخصوصا الإنزيمات المسؤولة عن التفاعل الأول 0 $A \rightarrow B$
- ☒ أما الكبح فيتم في حالة إن المنتوج النهائي يمنع تصنيع الأنزيم أو الأنزيمات التي تساعد في إتمام هذا المنتوج 0

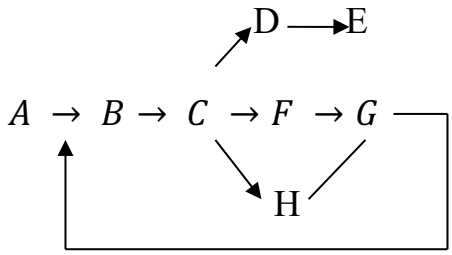


إن آلية التغذية الإسترجاعية تتم بأخذ الأشكال التالية :

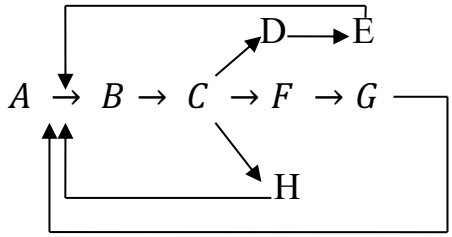
1. المتراكب : (كل منتوج يقفل مسلك)



2. الموزع : (يشتركون في منع الخطوة الأولى) :



3. المتشابك : (أي واحد من المنتوج يستطيع قفل المسلك الأول) :



✓ لذلك يسبب نظام التغذية الإسترجاعية وعند الرغبة باستعمال كائن مجهري ينتج منتوج ما لا بد من إيقاف سيطرة التغذية الإسترجاعية لمسارات التصنيع الحيوي الخاص لهذا المنتوج وذلك يتم بتعريض هذه الميكروبات الى برامج مكثفة لتطوير إنتاجها من خلال تحويرات بيئية ووراثية يؤدي الى إيقاف أو تقليل تأثير سيطرة التغذية الإسترجاعية وبالتالي زيادة الإنتاجية لذلك المنتوج 0

✓ تشمل هذه البرامج المكثفة :

1. تغيير تنظيم التقنية الإسترجاعية , حيث يقدم لهذا الغرض نوعين من المعالجات :

- الأول : توسيع قابلية الخلايا على منع كبح الإنتاج 0
- ثانياً : إستعمال السلالات الطافرة المقاومة للتغذية الإسترجاعية

2. تحويرات فسلجية مثل تحويرات النفاذية :

- أحسن مثال : هو إنتاج حامض الكلوتاميك باستعمال بكتريا *Corynebacterium glutamicum* فإن تحديد مستوى البايوتين في وسط الإنتاج بأقل من 5 مايكروكرام لكل لتر يؤدي الى زيادة الطرح (النفاذية) حامض الكلوتاميك الى الوسط وبالتالي لا يصل الى الحد الذي يؤدي الى عمل نظام التغذية الإسترجاعية 0

3. تحسين الإنتاج باستعمال بعض التطبيقات الوراثية :

أ- التهجين بالتزاوج :

a. الإقتران الجنسي لبعض أنواع البكتريا فقط 0
b. التزاوج في الفطريات مثل فطريات Basidiomycetes , Ascomycetes تمتلك نظام تزاوج متطور 0

ب- التطويع الوراثي (داخل الجسم الحي) منها :

a. البلازميدات 0
b. الإندماج البروتوبلازمي (وراثة سايتوبلازمية) 0
c. الإندماج الخلوي 0

ت- إستعمال الهندسة الوراثية (خارج الجسم الحي) : متطلبات الهندسة الوراثية :

a. مصدر للـ DNA أو الجين 0
b. ناقل 0
c. طريقة عمل لربط DNA الغريب 0
d. الكشف عن استقبال هذا الجين ومدى قدرته على التعبير عن نفسه 0

الوسط الزرعي المستخدم في الإنتاج

مكوناته الأساسية هي المكونات الطبيعية المعروفة وهي : الماء , N_2 , O_2 , C , فيتامينات , أملاح , إضافة الى :

1. السوابق Precursor
2. مواد محفزة ومحثة
3. المثبطات
4. المحاليل المنظمة

1. السوابق Precursor

✓ هي عبارة عن مواد رخيصة الثمن تعتبر النواتج الأساسية للمواد غالية الثمن 0

الكائن المجهري	المنتوج	السابق
Corynebacterium	Serin غالي	Glycine رخيص
Streptomyces	Vit. B_{12}	Cyanides
Penicillium	Penicillin V	Phenoxy acetic acid
Wide Spp. أنواع متعددة	Penicillin G	Phenyl ethyl amine منقوع الذرة

2. مواد محفزة ومحثة :

✓ بعض الأنزيمات لا تنتج إلا بوجود المادة الأساسية في الوسط الزرعي وبالتالي عند الرغبة في إنتاج هذه الأنزيمات لا بد من توفير هذه المواد في الوسط الزرعي مثل وجود المادة :

الأنزيم α – manosidase ⟵ المادة الأساس Mannon

3. المثبطات :

- تضاف بعض المواد الكيمياوية المثبطة لبعض التفاعلات الأنزيمية في المسارات الأيضية لخدمة مسار معين (منتوج ما) 0
- مثلاً : يضاف ملح ثنائي سلفايت الصوديوم عند الرغبة في إنتاج الكليسيرول Glycerol 0
- والمثال الأوضح : تقليل درجة حرارة الحضن الى 27 م لبكتريا حامض اللاكتك عن الرغبة في إنتاج البروتينات المضادة للبكتريا كالبكتريوسينات على حساب إنتاج الحوامض 0

4. المحاليل المنظمة :

- ليس بالضرورة أن تكون الظروف المثلى للنمو هي نفسها المثلى للإنتاج 0
- مثلاً : بكتريا حامض اللاكتك pH الأمثل للنمو 6.8 والأمثل لإنتاج البكتريوسينات هي 5.7

تعقيم الأوساط الزرعية :

قد يحدث التعقيم :

1. داخل المخمر وهو الأفضل تجنباً للتلوث 0
2. خارج المخمر 0
3. بإستعمال مبادلات حرارية على شكل منظومة مرافقة للمخمر , حيث يتم التعقيم بإمرار الوسط على هذه المبادلات الحرارية الساخنة 0

تعقيم الهواء :

- يتم بتمرير الهواء بمرشحات خاصة وإمراره على مبادلات حرارية 260 م 0
- من أهم المشاكل التي تواجه عمل المخمرات هي "الرغوة" 0
- الرغوة :

هي عبارة عن مواد بروتينية تتحول الى أغلفة لا تتمزق , تعيق عمل المبادل , ويتم التخلص منها باستعمال مضادات الرغوة التي تعمل على إختزال الشد السطحي بطريقة التنافس مع المركبات الموجودة في الوسط التي تسبب الرغوة وبالتالي تعمل على تقليل الرغوة وإنهائها 0

طريقة استخلاص المنتوج (مخطط عام يوضح استخلاص منتجات التخمر) 0

هناك بعض النقاط التي يجب مراعاتها (لتقليل كلفة الإنتاج) :

1. تحديد موقع المنتوج داخل الخلية أو خارجها 0
2. التركيب الكيمياوي للمنتوج , من حيث :
   - الوزن الجزيئي : يستعمل الترسيب الملائم لها 0
   - الشحنة : لاستخدام عمود الفصل 0
   - الحجم : يفيد في الغربلة الجزيئية 0
3. كمية المنتوج المتوقعة ومدى ذوبانيته بالماء أو المذيبات الأخرى 0

بروتين أحادي الخلية : (مواصفات العزلة) :

1. سريعة النمو 0
2. تغذيتها بسيطة 0
3. غير سامة أو ممرضة 0
4. محتواها الغذائي عالي من البروتينات والفيتامينات 0
5. قليلة المحتوى من الأحماض النووية 0
6. لا تكون فضلات يصعب التخلص منها 0
7. سهولة إستخلاص خلاياها من وسط التخمر 0
8. تنتج بروتين قابل للهضم ذو لون ونكهة مقبولة سواء للإنسان أو الحيوان حسب التصنيع 0

أهم المجاميع الميكروبية الحاوية على تلك الصفات (صفات عزلة) :

أولاً : الخمائر :

- ✓ إستعمال خميرة *Candida paraffinca* , ينتج الإتحاد السوفيتي (روسيا) أكثر من مليون طن سنوياً , حيث يمتاز هذا المنتوج بأنه غني بمجموعة فيتامينات B 0
- ✓ خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* تمتاز باستهلاكها للمولاس والأفضل منها في ذلك *Candida utilis*
- ✓ خميرة Torulopsis utilis تمتاز بقدرتها على استهلاك السكريات الخماسية والسداسية مما يجعلها أكثر ملائمة لاستعمالها على مخلفات معامل الورق 0
- ✓ خميرة *Candida lypolytica* تمتاز بقدرتها على النمو على مختلف المشتقات البترولية 0
- ✓ بعض أنواع المخلفات عبارة عن تراكيب معقدة يمكن استعمال أكثر من كائن مجهري بحيث يكمل أحدهما الآخر كاستعمال خميرة *Endomycopsis fibuliger* التي تعمل على تحويل النشأ الى سكريات أحادية مع خميرة *Candida utilis* ليصبح الخليط ملائم للنمو على مخلفات النشأ كمخلفات الذرة تسمى Mixed broth 0

ثانياً : البكتريا :

- ✓ تشير البحوث والدراسات الى أن محتوى الأحماض الأمينية الكبريتية في بروتينات البكتريا عالي , كذلك تمتاز باحتواء بروتيناتها على الأحماض الأساسية وإنها قليلة الحاجة الى منشطات النمو وأسرع نموا من الخمائر , ومداها التغذوي واسع , وتنتج بروتين ذو طعم مستساغ 0
- ✓ هذه الأمور دفعت بالصناعيين الى استعمالها لإنتاج بروتين أحادي الخلية 0
- ✓ أهم أنواع البكتريا المستعملة في تصنيع البروتين هي :
  - *Methylophilus methelotrophis*
  - *Pseudomonas methanica*
  - *Hydrogenomones eutrophica*
- ✓ تستعمل لتوفير البروتين لرواد الفضاء باستعمال الماء المحلل كهربائيا بفعل الخلايا الضوئية :

$$4H_2O \rightarrow 4H_2 + 2O_2$$

$$CO_2 + 2H \rightarrow (CH_2O)\text{كاربوهيدرات} + H_2O$$

- ✓ أمكن الحصول بهذه الطريقة 7 غم / لتر وإن استعمال مخمر سعة 20 لتر يكفي لإطعام رائد فضاء واحد 0

ثالثاً : الفطريات :

- ✓ أبسط مثال : هو فطر المشروم *Mushroom* 0
- ✓ المثال الثاني : فطر *Paccilomyces* ينمو على مخلفات الأخشاب الغنية بالسكريات 0
- ✓ يطلق إسم Pekilo Protein على البروتين المنتج الذي يمتاز بأنه غني بالفيتامينات 0
- ✓ المثال الثالث : فطر *Fusarium* لإنتاج بروتين أحادي الخلية وذلك على وسط فول الصويا المدعم بالكلوكوز , ينتج بروتين أحادي الخلية يشبه البروتين اللحمي يدعى Mycoprotein الأمر الذي حدى بالصناعيين إستعماله في صناعة الهمبركر 0

رابعاً : الطحالب :

- يشكل البروتين 60 % من الوزن الجاف للطحالب , وأهم ما يميزها هو إمكانية إستعمالها للبحيرات الحاوية على مخلفات المجاري والمخلفات الصناعية الأخرى , إلا أن احتياجها للضوء يجعلها تنمو على أوساط مكشوفة قابلة للتلف 0
- أهم أنواع الطحالب المستعملة في ذلك طحلب *Chlorella* 0

إستعمال الهيدروكاربونات في إنتاج بروتين أحادي الخلية :

- لم يكن إنتاج البروتين هو المقصود إنما كان المقصود هو حل مشكلة الصناعة النفطية الخاصة بتجميع الشمع في مسالك الغاز السائل مما يسبب مشاكل كثيرة , لذلك صمم نظام ميكروبي لهضم هذا الشمع فظهر في الوقت نفسه إمكانية الإستفادة من الكتلة الحيوية الناتجة من نمو الميكروبات 0
- في روسيا ينتج حوالي مليون طن من الكتلة الحيوية باستعمال شمع البرافين 0
- في العراق ينتج ثمان أطنان سنويا باستعمال الإيثانول 0

الميثانول :

- هو أحد الهيدروكاربونات الناتجة (ناتج عرضي) من الصناعات النفطية وهو غاز سريع الذوبان في الماء 0
- عند البحث أو الرغبة في استعماله كمادة أساس لإنتاج الكتلة الحيوية لابد من إختيار العزلة الميكروبية الملائمة للنمو بدرجة حرارة عالية (40 - 50 م) كعزلة *Methylophilus methelotrophy* 0
- والناتج عبارة عن بروتين حبيبي بلا طعم أو رائحة , كريمي فاتح , يستعمل في تغذية العجول 0

- أما ما يخص المشاكل الصحية , هو أن هذا البروتين غني بالأحماض الدهنية المشبعة وبالتالي فإن الوصول الى أنسجة الجسم يسبب مشاكل صحية 0

- الأمر الآخر : أنه غني بالأحماض النووية , ووجود كمية عالية من القواعد النتروجينية التي تزيد من حامض اليورك في الدم والإدرار 0

إنتاج خميرة الخبز :

- عندما بدأت مرحلة عزل الميكروبات , بدأ العلماء بعزل خمائر مخصصة لصناعات مختلفة 0
- أختيرت خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisia* لاستعمالها في إنتاج أو صناعة المعجنات , لكونها من الخمائر النشطة في تمثيل مصدر الكاربون الموجود في الطحين , لذلك تنمو بسرعة وتزداد كتلتها الحيوية ومنتوجها الأيضي 0

هناك عدة نقاط يجب مراعاتها عند إنتاج خميرة الخبز :

1. الوسط الزرعي , والأفضل هو المولاس والمطعم بعوامل النمو 0
2. توفير مخمرات بمساحات واسعة وكبيرة 0
3. ظروف الإنتاج دقيقة جداً , لأنه أي خلل وخصوصاً في كمية الأوكسجين سينتج الكحول بدلاً من الكتلة الحيوية (التكاثر) 0
4. يضاف الوسط على شكل دفعات من أجل السيطرة على ألا تزيد كمية الكحول عن 0,01 %
5. الملوثات , ودرجة حرارة الحضن 30 م , والرقم الهيدروجيني 4 - 5 0

أنواع الخميرة :

1. خميرة رطبة مضغوطة :
   - ✓ نسبة الرطوبة 70 % , وفترة الحضن في الثلاجة لا تزيد عن 14 يوم 0

2. خميرة جافة :
   - ✓ لا تزيد الرطوبة عن 8 % , وتجفف تحت ضغط عالي بحيث لا تزيد درجة حرارة التجفيف عن 45 م

- اللقاح المستعمل هو *Saccharomyces cerevisia* في وسط الإنتاج , والطعم حسب السلالة والتهجين الوراثي المستعمل 0
- إذن يجمع الراسب باستعمال الطرد المركزي ويغسل ويمرر على مرشحات لغرض التخلص من الماء الى حد معين , وإذا كانت الرغبة خميرة جافة يستعمل هواء ساخن بدرجة حرارة 45 م 0

نشاط الخميرة بالمعجنات :

- عند التحليل الكيمياوي للطحين وخصوصاً طحين القمح يعطي وبصورة أولية , إلا أن غالبيته العظمى نشأ بنسبة 75 % , وبروتين بنسبة 11 % 0
- لذلك يركز نشاط الخميرة من خلال إفرازها لأنزيمات تحلل النشأ Amylase حيث تحولها الى سكريات أولية لتصبح المصدر الأساسي للطاقة والكاربون 0
- كما ان هناك نواتج ثانية لهذه العملية وهي الهدف من استعمالها في المعجنات ألا وهي :
  - ✓ ثاني أوكسيد الكاربون CO_2 الذي يعمل على تكوين فقاعات داخل العجين 0
  - ✓ وكحول الإيثانول الذي يتطاير أثناء وضع العجين في الفرن 0
- أحياناً تستعمل عجينة معينة لإعطاء نكهة خاصة بذلك المنتوج 0

إنتاج المشروم (عش الغراب) :

- ✓ إنتاج هذه المادة بصورة صناعية محاطة بمشاكل كثيرة فيجب أن ينتج تحت رقابة صحية مشددة , وذلك لأن هذه الزراعة دائما ما تكون معرضة للتلف وخصوصا بفعل فطريات تحمل نفس المظهر إلا أنها سامة 0
- ✓ يمكن إيجاز مرحلة إنتاج المشروم بالمراحل الثلاث التالية :

1. إنتاج اللقاح :

- في البداية أُنتج اللقاح بطرق بدائية وذلك من خلال أخذ مخلفات الحيوانات وخصوصا الخيول وبعد توفير الرطوبة المحددة تنمو هذه الفطريات , فتؤخذ قبل نضجها ليتم إعادة زرعها على أوساط خاصة تشجع نموها لتستعمل فيما بعد كلقاحات في مزارع كبيرة 0
- الطريقة العلمية الصحيحة لاصطياد هذه الفطريات وذلك باستعمال بعض أنواع الحبوب الرطبة (بقوليات) التي تشجع نمو هذه الفطريات , تؤخذ هذه الفطريات بعد تكوين الحوافظ السبورية وتوزع كلقاحات جاهزة للإستعمال 0

2. تحضير فرشة الزرع :

- تتضمن هذه الفرشة تثبيت المواد العضوية التي تكون عادةً غير تامة التحلل وبالتحديد مخلفات الخيول , تكدس وترش بالماء وتقلب عدة مرات 0
- ثم يضاف لها قبل تعقيمها فضلات أخرى من أجل الحصول على تحلل جزئي لمادة بصورة عامة , تنقل الى غرف خاصة لتعقيمها بالبخار ثم تبرد 0
- يعتبر التبن أهم المواد المضافة والذي يعتبر الغذاء الرئيسي للعرهون 0

3. الزراعة :

- تنقل الصناديق المعقمة بالفقرة السابقة الى غرف مظلمة وتوضع بهيئة رفوف , حيث تكون درجة حرارة الغرفة 20 – 40 م ورطوبتها 90 % 0
- ينشر اللقاح الناتج في الفقرة الأولى على سطح الصناديق , وبعد فترة توضع طبقة خفيفة من التربة من أجل تشجيع الأجسام الثمرية على النمو 0
- فترة الحضن 5 أسابيع بعدها تقطف الأجسام الثمرية وبصورة مستقلة بحسب النمو 0

إنتاج الإنزيمات Enzyme Production

يترافق مصطلح إنتاج الإنزيمات بأنواع التخمرات

التخمر يقسم الى نوعين :

1. تخمر سطحي Surface Fermentation :
   - ✓ هي خاصة بإنتاج أنزيمات الأعفان 0
   - ✓ يستعمل وسط شبه صلب كأن يكون حاوي على الرز أو النخالة الرطبة إضافة الى الأملاح الضرورية للنمو 0
   - ✓ تكون الفرشة بسمك 1 - 10 سم , وتوضع في أواني هزازة لتوفير أكبر كمية من الهواء 0
   - ✓ سلبيات هذه الطريقة هو التلوث وتطاير السبورات من مكان العمل والسبب لأنه مكشوف 0
   - ✓ أما الإيجابيات : فإنها أقل كلفة ويمكن إستعمال نسبة عالية من المادة الجافة في الوسط ولهذا يكون الإنتاج الإنزيمي عالي الكمية 0

2. التخمر الغاطس Submerged Fermentation :
   - التخمر الغاطس أكثر شيوعا لأنه يحتاج مكان أصغر وأقل عرضة للتلوث وإمكانية تطبيق المكننة الحديثة والسيطرة الأوتوماتيكية عليها سهل , إلا إنه ذو تكاليف مرتفعة , لذلك يستعمل في الإنتاج الأكثر أهمية (المخمر) 0

إنتاج أنزيم الأميليز الفطري

- الميكروب المستعمل *Aspergillus oryzea* على وسط نخالة الحنطة الرطبة 0
- يستخلص الأميليز بواسطة الماء من النخالة (مزرعة) ثم يرسب بالكحول ويجفف بهذه الطريقة (تخمر سطحي) 0
- الطريقة الحديثة : إستعمال التخمر الغاطس مع الفطر *Aspergillus niger* 0

إنتاج الأنزيم البكتيري

- إستعمال بكتريا *Bacillus subtilis* في إنتاج الأميليز المقاوم للحرارة , وخصوصاً إذا كانت هذه العزلة مقاومة للحرارة يعمل على تحويل النشأ الى دكستران Dextran والذي هو عبارة عن سكريات بسيطة 0
- ظروف الإنتاج هي : pH متعادل , والحرارة 25 - 30 م لفترة 3 - 6 أيام 0
- تظهر البكتريا على شكل غشاء سطحي , ثم يركز الأميليز , أو يرسب الكحول أو كبريتات الصوديوم 0

إنتاج إنزيم البروتييز Protease

- يستعمل في صناعات عديدة خصوصاً الصناعات الجلدية والحرير والغذائية وفي غسيل الجاف وفي الطب لتنظيف الجروح 0

1. البروتييز الفطري (نفس طريقة الأميليز الفطري) 0

2. البروتييز البكتيري (نفس طريقة الأميليز البكتيري إلا أنه سوف ينتج بروتييز قلوي أقل مقاومة للحرارة) 0

Steroid Transformation & Hormones & Vitamins Production

تحول الستيرويدات وإنتاج الهرمونات والفيتامينات

تعتبر مركبات الستيروييد من الدهون المشتقة , تشمل مركبات الستيروييد Steroid على :

1. هرمونات ستيرويدية Steroid hormone
2. ومركبات الستيرول Sterole
3. مركبات الصفراء Bile salt

- ✓ ولهذه المركبات أهمية كبيرة جدا في المجالات الطبية , وفي مجال تنظيم الفعاليات الحيوية , والنمو في الإنسان والحيوان 0
- ✓ وازدادت أهميتها بعد أن عرف الكورتيزول ومشتقاته الذي له دور فاعل في علاج كثير من الإلتهابات المستعصية مثل إلتهاب المفاصل وغيرها 0

- ✓ لقد تم استخدام الميكروبات في تحويل الستيرويدات وإنتاج هرمونات يعجز الإنسان أن ينتجها بكميات وافية بأي طريقة أخرى 0
- ✓ وأصبح إنتاج الهرمونات بواسطة الميكروبات محور البحث الحالي والمستقبل في مجالات التقنية الحياتية وهندسة الجينات 0
- ✓ ولقد كشف أن هناك بكتريا وخمائر وفطريات تنتج هذه الستيرويدات مثل فطر *Claviceps* الذي يصيب سنابل القمح ويفرز عليها مواد تسمى Ergot Alkaloids 0
- ✓ كما كشف عن مواد شبيهة بهذه الستيرويدات في الخمائر سميت Ergosterol والتي يمكن إنتاجها وتحويلها الى فيتامين D 0

- ✓ كذلك وجد أن الفطر *Rhizopus* فعال في تحويل بعض الستيرويدات النباتية وتكوين هرمونات منشطة للنواة 0

- ✓ وللمقارنة بين الطرق الكيميائية والطرق الميكروبية لتحويل Cattle bile Steroids (مستخرجة من أكياس الصفراء في الماشية ولها إسم ثاني Deoxy Cholic Acid) الى كورتيزول نحتاج الى 37 خطوة كيميائية معقدة وقد يصعب عملها كيميائيا , لهذا يستعان بالأحياء المجهرية عند إضافة مجموعة أو نزع مجموعة كيميائية من الـ Steroid 0

- ✓ هناك ميكروبات متخصصة بإضافة مجموعة هيدروكسيل لأي ذرة كاربون في تركيب الستيرويد فتستخدم مثلاً فطريات *Cunnigghamella blacksleeana* لإضافة مجموعة هيدروكسيل الى ذرة الكاربون رقم 11 في جزيئة Cortexolone لإنتاج Hydroxy Cortisone الذي يعطي بالأخير Cortisone وهذا العمل يمكن أن يقوم به فطر آخر هو *Currularia tanata* وليست فقط الإضافة بل تعمل الميكروبات على هدرجة Hydration أو سحب هيدروجين Dehydration أو أكسدة عالية Epoxidation أو فصل مجاميع كيميائية جانبية أو إضافتها0

- ✓ ويجب الدقة باستخدام الميكروب بكل تحول بحيث لا يؤثر على أجزاء أخرى من الـ Steroid ويكون مركبات ثانوية غير مقصودة 0
- ✓ وفعلاً بتعدد الميكروبات المكتشفة وتخصصها بتحولات محددة على الستيرويدات أمكن إنتاج العديد من الستيرويدات بشتى الأغراض الطبية في علاج نقص الهرمونات وتنظيم النمو والحساسية والأمراض الجلدية وأمراض العيون والإلتهابات العديدة 0

- ✓ العملية التصنيعية تعمل في مخمرات مصنوعة من الصلب المقاوم للصدأ ووسط فيه متطلباته الدنيا لكي نوجه الميكروب باتجاه استخدام Steroid المضاف مع تهوية جيدة 0

- ✓ الوسط يكون مولاس أو وسط كلوكوز وحسب نوع الميكروب يضاف الستيرويد المطلوب تغييره بعد تذويبه بالكحول أو الأسيتون بحيث لا يكون المذيب ساما للميكروب المستخدم , يضاف الستيرويد أولا بكميات قليلة ثم أثناء التخمر يضاف الباقي ويعمل فحص بعد كل فترة قصيرة للكشف عن تكوين الستيرويد المطلوب بواسطة الكروماتوكرافيا والكشف عن البقع المتكونة بواسطة الاشعة فوق البنفسجية , وتستمر عملية التخمير يوم أو يومين ثم تجمع الستيرويدات بواسطة المذيبات وتنقى 0

أولاً : الهرمونات المنتجة بواسطة الميكروبات

1. هرمون الكورتيزون Cortisone

- ✓ هو هرمون يفرز من القشرة في الغدة الكضرية Adrenal gland , فعال ضد إلتهاب المفاصل الروماتيزي يستخرج من غدد الماشية 0
- ✓ ثم أنتج كيميائيا في الخمسينات بطرق معقدة جداً إلا أنه في الوقت نفسه أمكن إنتاجه من هرمون Progestron باستخدام فطر Rhizopus بست خطوات كيميائية فقط , وبدون الفطر نحتاج الى 37 خطوة كيميائية 0

2. الإنسولين Insuline

- ✓ هو هرمون يستخدم لعلاج داء السكري Diabetes mellitus ويستخرج من بنكرياس الماشية 0
- ✓ لكن بعد تطور علم نقل الجينات من كائن حي لآخر أمكن نقل الجين المسؤول عن إنتاجه من الماشية الى بكتريا *E. coli* الذي أنتجته بكميات كبيرة 0

3. هرمون النمو Somatotropin

- ✓ يفرز من الغدة النخامية Pituitary gland يستخدم لعلاج حالة التقزم النخامي Pituitary dwarfism 0
- ✓ كما ان الهرمون المستخرج من الحيوانات غير نقي وقد تظهر أعراض مضادة له أو قد يكون ملوث بالفايروسات0
- ✓ ولهذا اتجه الى إنتاجه ميكروبيا حيث أمكن إنتاجه وبنجاح وبكميات تجارية من بكتريا E. coli بعد معالجتها وراثيا (نقل الجينات) 0

4. الهرمونات النباتية أو الجبريلينات Gibberelens

- ✓ هي هرمونات تسرع من نمو النبات بزيادة حجم الخلايا وسرعة تكاثرها والتبكير في التزهير وتسريع عملية إنتاج إنبات البذور 0
- ✓ استعمل فطر *Giberalla fujikurol* لإنتاجه وهي فطريات تصيب نبات الرز حيث ينمى الفطر على أكار البطاطا والدكستروز لمدة اسبوع على درجة حرارة 24 م , ثم ينقل الى دورق وسط البطاطا السائل بحجم خمس لترات والحاوي على الأملاح والكلوكوز لمدة ثلاث أيام وبدرجة حرارة 28 م , بعد ذلك ينقل اللقاح الى مخمر سعته 100 لتر 0
- ✓ كما وجد أن هناك فطريات أخرى تكونه أو قادرة على إنتاجه مثل فطر *Fusarium moniliform* 0

ثانياً : الفيتامينات المنتجة بواسطة الميكروبات

1. فيتامين Riboflavin

- يعتبر من الفيتامينات المهمة لتكاثر ونمو الإنسان والحيوانات الإقتصادية وينتج كناتج عرضي في الصناعات التي تساهم بها الخميرة كالكحولات والمعجنات 0
- كذلك ينتج من البكتريا , ولكن لإنتاجه صناعياً لا تستخدم البكتريا والخمائر , بل تستخدم الفطريات الراقية Higher fungi مثل :
  - ✓ *Ashbya gossypii*
  - ✓ *Eremothecium ashbyii*
- وكلاهما ممرض لنبات القطن 0
- والنوع الأول يفضل لأنه نوعاً ما ثابت الصفات بالنسبة لإنتاجه للفيتامين , بينما الثاني قد يفقد هذه الصفة أو تنخفض إنتاجيته 0
- الوسط المستخدم هو وسط سكري مثل الكلوكوز مضافاً إليه مواد عضوية خام مع إضافات قليلة من زيت الذرة لزيادة إنتاج الفيتامين 0
- والرقم الهيدروجيني للعملية التخميرية من 5 – 7,5 , ودرجة حرارة 27 م , ومدة التخمير 4 أيام وهي عملية تخمر هوائي , مع ملاحظة عدم زيادة التهوية , وتقسم الى ثلاث مراحل :

المرحلة الأولى :

- ✓ نمو سريع للفطريات , واستهلاك سريع للكلوكوز , يؤدي الى خفض الـ pH بسبب تكون حامض البايروفك 0
- ✓ وعندما يستهلك كل الكلوكوز يتوقف نمو الفطر (ظروف غير ملائمة) 0

المرحلة الثانية :

- ✓ يبدأ تكوين السبورات وانخفاض كمية حامض البايروفك مع تراكم الأمونيا بسبب نشاط أنزيمات Deaminase مما يؤدي الى ارتفاع قيمة الـ pH ويتحول الوسط الى قلوي وفي هذه المرحلة يبدأ تكوين الرايبوفلافين Riboflavin متحدا مع مركبات الخلية تسمى Cell bound riboflavin على هيئة مركبات FMN , FAD

المرحلة الثالثة :

- ✓ تحلل خلايا الفطر وتحرر Riboflavin 0

بعض الدول فضلت الخميرة على الفطريات خاصة خميرة Candida لأن التصنيع يتم عند pH منخفض وذلك لمنع التلوث البكتيري وبالتالي قد لا نحتاج الى تعقيم الوسط , إلا أن مشكلة هذه الخميرة هو أنها حساسة للحديد جدا ولهذا لا يمكن إستخدام أحواض وأدوات حديدية مصنوعة من الصلب , لهذا يجب تغليفها بالبلاستك أو إضافة الكوبلت الى وسط التخمير لمعادلة سميت الحديد 0

2. فيتامين B12

- في نهاية الأربعينات أمكن استخلاص هذا الفيتامين من الكبد لمعالجة فقر الدم وهو عبارة عن مركب كيميائي معقد يحوي على الكوبلت ولهذا يسمى Cobamide 0
- ثم لوحظ أن هذا الفيتامين في مزارع البكتريا *Streptococcus griseus* المستخدمة في إنتاج المضادات الحياتية وكذلك في مزارع الأسيتون والبيوتانول والإيثانول 0
- كذلك استخدمت بكتريا *Streptococcus olivaeus* في إنتاجه على وسط الكلوكوز وكلوريد الكوبلت كبادئ للفيتامين عند درجة حرارة 27 م وتهوية جيدة , حيث يستمر التخمر من 3 - 4 أيام إلى أن تتحلل المايسيليوم ثم يرشح المحلول وتجفف المادة الصلبة وتستخدم مباشرة إذا كان الغرض إضافتها لأعلاف الحيوانات أو يستخلص بالتحميض أو الحرارة أو الكحول إذا كان المقصد الحصول عليه نقياً لعلاج الإنسان حيث بعد إنتهاء التخمير يحمض الوسط ويضاف كبريتيت الصوديوم لحماية الفيتامين ثم يسخن الوسط وتفصل المواد الصلبة بالترشيح , أما السائل فيبخر تحت ضغط سالب فنحصل على الفيتامين نقي ومبلور 0

3. فيتامين D , A

- تستخدم الميكروبات في إنتاج مواد يمكن بسهولة تحويلها الى هذه الفيتامينات 0
- فتستخدم الفطريات مثل :
  - *Phycomyces blacksleenus*
  - *Choanephora cucurbitarum*
  - *Blackeslea trispora*

لإنتاج بيتا كاروتين B – Carotene الذي يعد بادئ لتكوين فيتامين A 0

- أما بالنسبة لفيتامين D فقد استخدمت خميرة *Saccharomyces uvarum* لإنتاج مادة Ergosterol الذي يعد المادة التجارية لإنتاج فيتامين D وذلك بمجرد تشعيع المادة بالأشعة فوق البفسجسية 0

إنتاج حامض الليمون Citric Acid

- أنتج هذا الحامض لأول مرة مستخلص من الفاكهة وخاصة الليمون لذلك سمي حامض الليمون , بعد ذلك استعملت الفطريات لإنتاجه ولذلك سمي حامض الليمون الصناعي 0
- يعتبر الفطر *Aspergillus niger* من أهم الفطريات المستعملة في إنتاج حامض الليمون بطريقة التخمير السطحي كذلك تستعمل طريقة التخمير الغاطس إلا أنه يجب مراعاة الدقة فيها لتجنب إنتاج أحماض أخرى بكميات كبيرة على حساب حامض الليمون 0
- استعملت أوساط مختلفة كالمولاس ومخلفات البنجر وعصير اللبن أو البطاطا , وأفضل الأوساط هو مخلفات البنجر لاحتوائه على 10 - 20 % سكر المدعم ببعض عوامل النمو الأخرى ككبريتات المغنيسيوم وأملاح النايتروجين وفوسفات البوتاسيوم 0

عملية الإنتاج (التخمر)

تتشابه الطريقتان (التخمر السطحي والتخمر الغاطس) من حيث التهوية ودرجة الحرارة وكما يلي :

- التخمر السطحي :

تلقح الطبقة الضحلة المعقمة التي لا يتعدى سمكها بضع سنتمترات بسبورات خاصة بالفطر *Aspergillus niger* بحيث تبقى السبورات على سطح الوسط من أجل التهوية 0

تحضن لمدة 7 - 10 أيام كافية لإنتاج 60 - 80 غم من حامض الليمون لكل 100 غم سكر 0

ينقى هذا الحامض من راشح الوسط على شكل سترات الكالسيوم (يترسب الحامض ليكون ملح سترات الكالسيوم) :

1. ترشيح
2. الراشح + Ca ⟵ سترات الكالسيوم 0
3. $Citric\ acid\uparrow + CaSO_4\downarrow$ ⟵ H_2SO_4 + الراسب

☒ هناك عدة تغيرات لتكوين الحامض أهمها :

أن جزيئة الكلوكوز تتجزئ الى مركبين ثلاثية الكاربون , أحدهما يفقد جزيئة أو مجموعة كاربون ليصبح ثنائي , والآخر يستقبل مجموعة كاربون ليصبح رباعي , فيتحد الثنائي مع الرباعي لتكوين حامض الستريك 0

إنتاج حامض اللاكتك Lactic acid

- إذا كانت فطريات *Rhizopus oryzea* ⟵ Heterofermentation
- إذا كانت بكتريا Lactic Acid ⟵ Homofermentation

✓ أهم فرق بين Heterofermentation & Homofermentation :

1. Heterofermentation : بعملية Dehydrogenase يتحول $1C \longrightarrow 1C_3$
2. Homofermentation : ينتج β - glactosidase فتتحول $1C \longrightarrow 2C_3$

- يمتاز هذا الحامض طعمه بلارائحة قابل للإمتزاج بالماء والكحول والإيثر , ولا يتبلور من المحلول كالأحماض الأخرى , ودرجة إنصهاره منخفضة , ولذلك يكون في أغلب الظروف بهيئة سائل وإن صفة ذوبانه في الماء ساعدت على استعماله في مختلف الصناعات كالجلدية والنسيجية وصناعة مواد التلميع والبلاستيكية وكذلك يستعمل في الصناعات الغذائية وخصوصا أن طعمه معتدل الحموضة حيث يستعمل في صناعة المربيات والمخللات والمشروبات الغازية 0
- تستعمل أملاحه لاكتات الكالسيوم (البكنك باودر) في صناعة المعجنات وكمصدر للكالسيوم في العلاجات الطبية 0

الأحياء المجهرية المستخدمة في إنتاج حامض اللاكتك :

- *Lactobacillus delbrueckii* تمتاز باستعمال سكر المالتوز
- *Lactobacillus bulgaricus* تمتاز باستعمال سكر اللاكتوز
- *Lactobacillus pentosus* تمتاز باستعمال سكر البنتوز (مخلفات الورق)

- في عملية الإنتاج يجب المحافظة على بقاء تركيز السكر في الوسط منخفض أقل من 15 % ومصدر الكاربون يضاف بشكل تدريجي وذلك للمحافظة على الحامض من التبلور المفاجئ (العالي) (إنتاج حامض وبشكل لا يؤثر سلبا على كفاءة العزلة) 0

الإستخلاص :

- يضاف كاربونات الكالسيوم بعد الإنتهاء من عملية التخمر للراشح للوصول الى pH = 5 0
- يؤخذ الراسب مع ملاحظة أن الراسب يحتوي منتوج بروتيني (بروتين أحادي الخلية) ويستخلص الحامض بطرق أهمها طريقة إضافة H_2SO_4
- بعد ذلك يستخلص حامض اللاكتك الحر بواسطة آيزوبروبيل إيثر Isopropyl Ether (هو كحول عضوي) 0
- ثم يستخلص الحامض بتبخير الكحول , (ص 361 إنتاج الخل) 0

- أهم مسألة تلاحظ هي إختيار سلالات ميكروبية ليست لها خاصية إستهلاك الحامض الأميني المنتج 0
- وأمكن التخلص من هذه المعضلة باستخدام المطفرات الغذائية Auxotrophic Mutant وبالتالي إنتاج كميات كبيرة من أحماض أمينية معينة 0
- المعضلة الأخرى هو أن الحامض المنتج قد يكون مثبط للميكروبات ولذلك استعملت عزلات مقاومة للحامض الأميني

حامض الكلوتاميك Glutamic acid

- أول حامض أنتج على نطاق تجاري باستعمال مخمرات وكان إنتاجه ضروري وذلك لزيادة الطلب على مركبات الكلوتامات الصوديوم كمواد منكهة في الصناعات الغذائية 0
- أهم صفة بالأحياء المنتجة لهذا الحامض هو نقص في أنزيم α - Ketoglutaret dehydrogenes يوجد هذا الأنزيم في دورة كربس ويؤدي نقصه الى تراكم الحامض الأميني Glutamic acid
- وبالتالي تراكم حامض Glutamic acid يقود الخلية الى طريق إضافة NH_3 وبالتالي إنتاج الكلوتامين 0

ملاحظة :

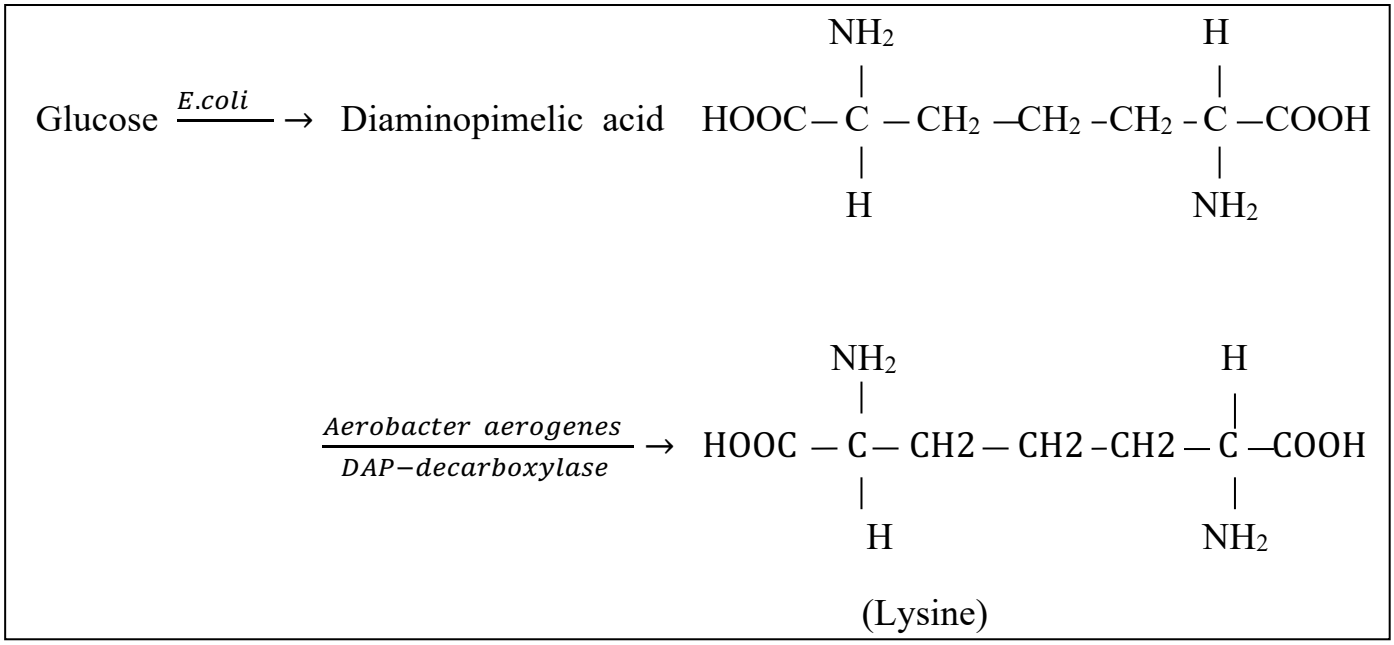
- قد يستعمل أكثر من عزلة مايكروبية لتعمل الأولى على تجميع α - Ketoglutarate , والثانية تعمل على Amination المركب الى Glutamic acid
- أهم عزلة مستعملة هي *Micrococcus glutamicus*

عملية الأنتاج

- يحضر لقاح العزلة السابقة بتنميتها على وسط كلوكوز , ببتون , خلاصة اللحم الملحي في pH = 7 وحرارة 28 C ثم ينقل اللقاح الى وسط جديد وحجم أكبر ويضاف لهذا الوسط الببتون واليوريا , وبعد يومين يتم الكشف عن حامض الكلوتاميك Glutamic acid 0
- إن هذا الحامض الأميني عادة يتراكم داخل الخلية أو الخلايا لذلك لا بد من إضافة مركبات تزيد من نفاذية أغشية الخلايا لكي يخرج الى الوسط ومن هذه المركبات : البايوتين و البنسلين 0

حامض اللايسين Lysine Acid

- يأتي في المرتبة الثانية بعد الكلوتامك وذلك لزيادة الطلب عليه كمدعم غذائي لبروتينات الحبوب التي تعاني من نقص هذا الحامض لذلك يضاف الى الطحين 0
- ينتج باستعمال الفطريات خصوصا الفطر *Ustilago maydis* وباستعمال الخميرة *Candida utilis* 0
- أما بشكل تجاري فينتج باستعمال نوعين من الأحياء (بالتعاون) وهي : *E. coli* , *Aerobacter aerogenes* ويتم كالآتي :



طريقة الإنتاج :

- وسط يحتوي على جيليسيرول وعصير الذرة وفوسفات الأمونيوم وباستخدام بكتريا *E. coli* بدرجة حرارة 37 م و pH = 7.2 وفي ظروف هوائية حيث تكون مدة الحضن يوم واحد بعدما ينقل اللقاح الى حجم أكبر 2 – 5 لتر بنفس الظروف مع ملاحظة زيادة فترة الحضن 3 – 5 أيام 0
- في هذه الظروف يتكون Diaminopimelic acid (DAP) بعدها تضاف بكتريا *Aerobacter aerogenes* أو الأنزيم الهدف DAP – decarboxylase ,
- بعد فترة حضن 10 ساعات يتحول هذا الحامض DAP الى Lysine

إنتاج المذيبات العضوية

إنتاج المذيبات العضوية

- *Clostridium acetobutylicum* : المادة الأساس نشأ (نشوية) 0
- *Clostridium saccharoacetobutylicum* : المادة الأساس (سكريات أحادية) 0

- ✓ عبارة عن بكتريا لاهوائية , مكونة للسبورات , موجبة لصبغة كرام 0
- ✓ المشكلة في صناعة المذيبات العضوية هي التلوث ببكتريا *Clostridium butrycum* التي تعمل على إنتاج أحماض عضوية والسبب امتلاكها للأنزيمات التي تختزل المذيبات الى أحماض (مذيبات الأسيتون) 0
- ✓ بكتريا النوع الأول 6 / 3 / 1
  Butanol / aceton / ethanol
- ✓ بكتريا النوع الثاني 6 / 3 / 5

ظروف الإنتاج :

- الوسط هو نقيع الذرة إذا كان النوع الأول , والمولاس إذا كان النوع الثاني 0
- فترة الحضن من 2 - 3 يوم , الحرارة 35 م , pH حامضي 0
- تسلسل الإنتاج : في البداية يتحول السكر الى أحماض عضوية بفعل أنزيمات تكيفية , ثم تختزل هذه الأحماض الى مذيبات عضوية في مرحلة متأخرة من الحضن 0
- المنتوج الثانوي : عبارة عن غازات وفيتامينات مثل Riboflavin وأحماض عضوية في ظروف لاهوائية 0
- يتم إيقاف المخمر بعد نفاذ 30 - 35 % من المادة السكرية وعدم الإنتظار حتى نفاذ كامل السكر والسبب في ذلك لأن المذيبات العضوية يزداد تركيزها بالوسط مما يؤدي الى حدوث طفرات في العزلة المستعملة وبالتالي تحولها الى عزلات سامة 0

الإستخلاص والتنقية :

- ✓ تقطر المزرعة , وترش في وسط حار جدا (ساخن) على شكل رذاذ 0
- ✓ والنتيجة هي : تبخر البيوتانول والأسيتون والإيثانول مع بقاء الخلايا الجافة 0
- ✓ يجمع هذا البخار ويكثف , ويفصل الأسيتون أولاً عن البيوتانول للإستفادة من الوزن الجزيئي وأخيرا الإيثانول 0
- ✓ يجمع راسب الرذاذ ويسوق كـ (Single Cell Protein) , أما H_2 , CO_2 المنتج خلال فترة الحضن يجمع ويعبأ في قناني ويستعمل في صناعات أخرى 0

المخصبات الحيوية Bacterial Contelizer

ما أهم أنواعها هي :

1. *Rhizopium spp.*

- ✓ سالبة لصبغة كرام , عصوية , متحركة , ذات معيشة تكافلية مع العائلة البقولية (جذور العائلة البقولية) 0
- ✓ تصنف بحسب جذر النبات الذي تتكافل معه 0
- ✓ لها القدرة على إنتاج أنزيم Nitrogenase الذي يعمل على تحويل نتروجين الهواء الجوي واختزاله الى نترات أو نتريت أو أمونيا 0

2. *Azotobacter*

- ✓ نفس مواصفات *Rhizopium* لكنها ذات معيشة حرة 0
- ✓ عملية الإختزال :

من أهم الإعتراضات أو السلبيات على إنتاج الأسمدة البكتيرية خاصة بالدول النامية هو صعوبة إقناع المزارعين بإضافة هذه الأسمدة الى تربة حقولهم , إضافة الى درجة حرارة الجو , ورطوبة التربة , (يجب أن تكون في حدود معينة) 0

$$N \equiv N \xrightarrow{nitrogenase} HN = NH \xrightarrow{\text{أنزيم}} H_2N - NH_2 \xrightarrow{\text{أنزيم}} NH_3 \rightarrow H-\underset{\underset{R}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-COOH \rightarrow H_2N-\underset{\underset{R}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-COOH$$

N_2 النتروجين الجوي | المرحلة 1 | المرحلة 2 | المحرحلة 3 | With Organic acid | amino acid

إنتاج الغاز الحيوي Biogas

- هناك ملايين الوحدات الخاصة بإنتاج الغاز الحيوي , منتشرة في الدول المتقدمة في العالم 0
- الفكرة منه : هو الإستفادة من المخلفات أو المحاصيل في إنتاج وقود على هيئة غاز قابل للإشتعال يستعمل في تشغيل المحركات والتوربينات 0
- عادة ينتج الغاز من مواد صعبة الهضم أو معقدة , لذلك اللقاح : هو عبارة عن خليط من الأحياء المجهرية (المحللة للبكتين والمحللة للسيليلوز) الذي يعمل شكل متسلسل لتحويل هذا المواد الى غاز الميثان CH_4 0
- أهم أنواع الأحياء المجهرية هي البكتريا المنتجة لأنزيم Cellulase 0