كلية الزراعة / جامعة الأنبار
قسم علوم الأغذية

الاسبوع السادس والسابع والثامن والتاسع والعاشر

فصل منتجات التقنية الحياتية

Downstream processing in biotechnology

يطلق مصطلح فصل المنتجات على جميع الخطوات اللازمة لفصل وتنقية المنتوج من أي نوع من العمليات الصناعية، تحتل هذه العملية أهمية في التقنية الحياتية نظراً للاختلاف الكبير بين الوضع النهائي للمنتجات ووضعها الأصلي داخل أجهزة التخمر، مثال على ذلك تعطي عملية التخمر المثالية مزيجا من مواد صلبة منتشرة تتمثل (بالخلايا أو بعض مكونات الوسط الغذائي) وكذلك محلول مخفف وقد يكون المنتوج المرغوب داخل الخلايا واحداً من مكونات مزيج معقد جداً أو يكون في سائل مخفف أو قد يكون موزعا بين الاثنين، لذلك يحتاج إلى فصل وتركيز وتنقية ضمن عمليات دقيقة وفعالة مع الأخذ بنظر الاعتبار الجانب الاقتصادي، حيث وجد أن كلفة عملية الفصل تعادل 20 – 60 **%** من كلفة عملية التصنيع الكلية . إن بعض عمليات الفصل المختبرية غير اقتصادية عند استخدامها على نطاق تجاري، فضلاً عن ذلك فإن بعض منتجات التقنية الحياتية هي عبارة عن مركبات حساسة وتكون فعالة فقط تحت ظروف معينة ومحدودة من الرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة والتركيز، لذلك يجب العناية الفائقة في اختيار واستخدام الطرق العلمية اللازمة لفصل المنتوج من أجل ان تعمل بكفاءة عالية، ولاتوجد عملية واحدة مثالية لكل المنتوجات أو سلسلة من العمليات تكون ملائمة لكل المنتوجات بل يجب دمج عمليات منفردة وبطريقة ملائمة للوصول إلى عملية فصل ناجحة.

ومن هذه العمليات:

أولًا : فصل الجسيمات الدقيقة Separation of particles

تتمثل الخطوة الأولى بعد انتهاء عملية التخمر بفصل المواد الصلبة والتي تشمل الخلايا أو الخلايا والأنزيمات المثبتة على مواد مدعمة إضافة إلى المكونات الصلبة للوسط الغذائي .احيانا يسبب حجم خلايا البكتريا صعوبات في عمليات الفصل ويمكن فصل الخلايا ذات الحجم الاكبر بسهولة أكثر باستعمال طريقة الترسيب البسيط كما تعتمد سهولة الفصل على طبيعة وسط التخمر ودرجة الحرارة والرقم الهيدروجيني .هناك بعض الحالات يجب إضافة مواد تساعد على الترشيح أو تساعد في عملية الفصل وتتم عملية الفصل بالطرق التالية:

الاسبوع السادس والسابع والثامن والتاسع والعاشر

1- الترشيح Filtration

تستخدم هذه الطريقة بصورة واسعة وتعد مثالية في فصل الاعفان والبكتريا الخيطية من وسط التخمر، ويمكن استعمالها ايضًا مع الكتل المتلبدة من الخمائر، وهناك المرشحات الضاغطة والتي تعتبر من أكثر طرق الترشيح المستعملة، وكذلك الترشيح بالمرشحات الدوارة تحت التفريغ خاصة في فصل الخمائر.

2- الطرد المركزي Centrifugation

تستخدم في فصل الخلايا البكترية الصغيرة الحجم جداً إلا أن هناك بعض الصعوبات نظرا للفرقالقليل بين كثافة الخلايا والجزء السائل، وتستخدم هذه الطريقة كثيراً على نطاق مختبري في فصل المواد البايولوجية ولكن استخدامه على النطاق الصناعي يصاحبه بعض الصعوبات بالإضافة إلى ارتفاع كلفته.

3- التلبيد والطفو Flocculation & flotation

تُعد عملية فصل خلايا الخميرة صغيرة الحجم عن وسط التخمر السائل من العمليات الصعبة جداً حتى في حالة استخدام الطرد المركزي ويمكن تحسين عملية فصلها باستخدام عملية التلبيد. يحدث التلبيد بصورة عكسية في حالة معادلة الشحنات الموجودة على سطح الخلية بواسطة أيونات مغايرة الشحنة، كما يحدث بصورة غير عكسية عندما تشكل جزيئات البوليمر جسراً بين الخلايا، وتكون العوامل المساعدة على التلبيد عبارة عن املاح غير عضوية ومواد شبه غروية ومواد عضوية الكتروليتية (المنحلة كهربائيًا) . تعتمد عملية التلبيد على عوامل اخرى مثل طبيعة وعمرالخلايا والحالة الايونية ودرجة الحرارة فضلاً عن عوامل التلبيد .ويمكن استخدام الطفو في حالة عدم تكوين كتلة متلبدة ذات كثافة عالية، وفي هذه الحالة تقوم فقاعات الغاز الصغيرة بادمصاص وسحب الاحياء المجهرية .وتعتمد عملية الفصل على حجم فقاعات الغاز ويمكن نشر الغاز في داخل الوسط أو تكوين فقاعات صغيرة جداً من الغازات المذابة وذلك من خلال اطلاق الضغط الزائد أو بواسطة الانحلال الكهربائي ويمكن تشجيع تكوين الرغوة باستعمال مواد مجمعة غير ذائبة مثل الاحماض الدهنية طويلة السلسلة أو الامينات ثم تزال الدقائق

المجتمعة في طبقة الرغوة .وتستعمل عملية التلبيد والطفو مجتمعة في انتاج بروتين احادي الخلية وبكفاءة عالية في فصل الكتلة الحيوية.

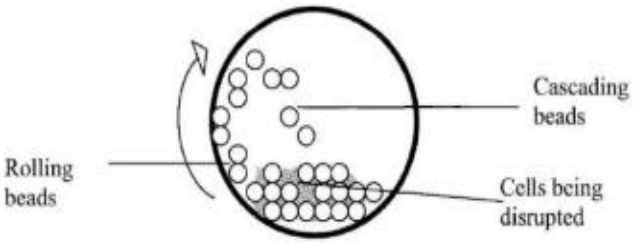
ثانيًا: تمزيق الخلايا Disintegration of cells

يتم احيانا تمزيق الخلايا لاستخلاص بعض المنتجات الموجودة في داخل الخلايا مثل الأنزيمات الداخلية .وتعد عملية تمزيق خلايا الاحياء المجهرية من العمليات الصعبة وذلك لقوة جدار الخلية والضغط الازموزي العالي داخل الخلايا . ويصعب استخدام الطرق الميكانيكية البسيطة مثل الطحن لتمزيق الخلايا نظراً لحجمها المتناهي في الصغر ويجب ان تجرى عملية التكسير دون تلف بعض مكونات الخلية المرغوبة ومن الطرق المستخدمة في تمزيق خلايا الاحياء المجهرية:

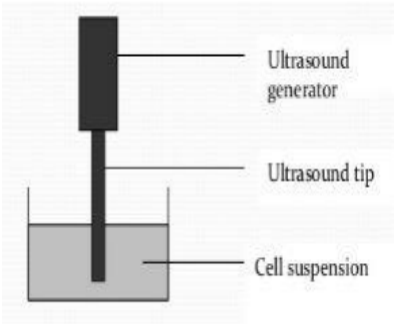
1- الطرق الميكانيكية

تتضمن استخدام عملية الطحن في المطاحن الكروية والمطاحن شبه الغروية فضلاً عن استخدام الضغط واجهزة التجنيس والموجات فوق الصوتية . ومن الطرق الاخرى واسعة الاستعمال هي استخدام ضغط عال يعقبه تخفيض الضغط وينتج عن ذلك جريان معلق الخلايا خلال باثق دقيق حيث يحصل تكسير الخلايا نتيجة للتجزئة.وتستخدم الموجات فوق الصوتية على نطاق مختبري ويعاب عليها على نطاق صناعي بسبب الحرارة المتولدة.

أساس عمل الموجات فوق الصوتية يحدث انطلاق بالموجات فوق الصوتية عن طريق الهزازات فوق الصوتية التي تنتج صوتًا عالي التردد كثافة موجة تبلغ حوالي 20 كيلوهيرتز/ثانية، ثم يقوم محول الطاقة بتحويل الموجات إلى التذبذبات الميكانيكية من خلال مسمار التيتانيوم المغمورة في معلق الخلايا. يتم استخدام هذه الطريقة لكل من اضطراب الخلايا البكتيرية والفطرية. يمكن تمزيق الخلية البكتيرية في 30 إلى 60 ثانية ، والخميرة بين 2 الى 10 دقيقة.



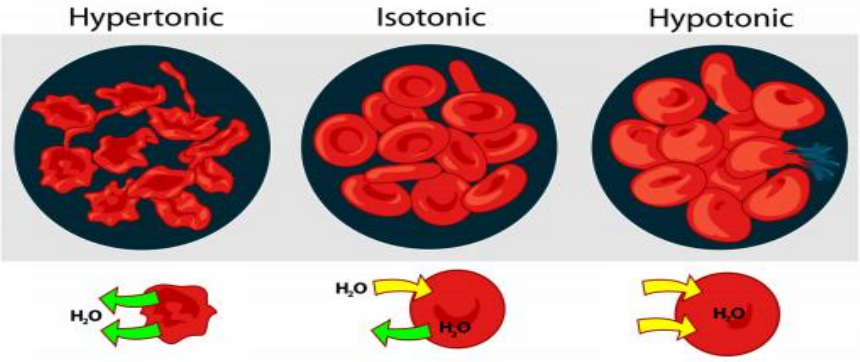
المطاحن الكروية



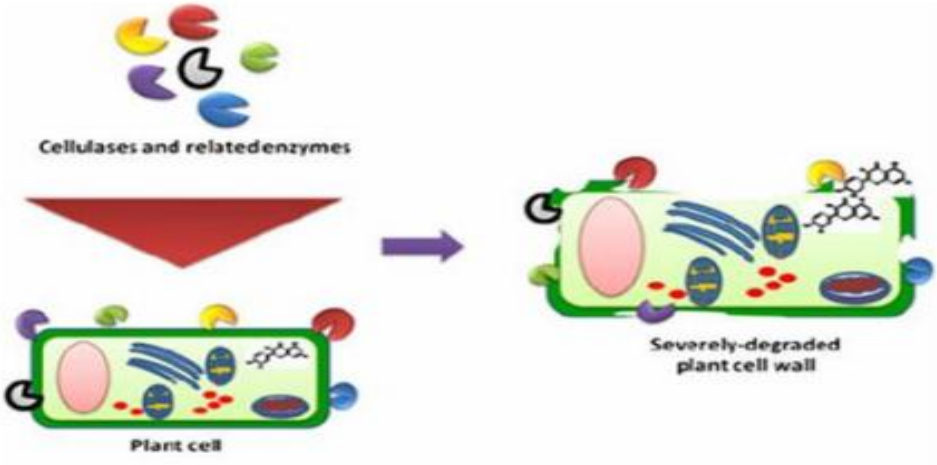
الموجات الفوق الصوتية

2- الطرق غير المكيانيكية

يمكن تكسير خلايا الاحياء المجهرية أيضا بواسطة الطرق الحرارية أو الكيميائية أو الأنزيمية، ويعد التجفيف من الطرق الواسعة الاستعمال الذي يسبب تغيراً في تركيب جدار الخلية وبالتالي يسهل عملية الاستخلاص اللاحقة لمحتويات الخلية بواسطة المحاليل المتعادلة أو المحاليل الملحية . وتعد طريقة تكسير الخلايا بواسطة الانزيمات أو الموجات فوق الصوتية من أحسن الطرق للحصول على انزيمات داخلية فعالة .بينما تعد الطرق الحرارية والصدمة الأزموزية أقل جودةً من الطرق السابقة.



الصدمة التناضحية : هي تقنية يمكن استخدامها في التطبيقات التقنية الحيوية لتحلل الخلايا، ويتم فيها تعريض الخلايا أولاً لتركيز الملح العالي أو المنخفض، بعدها يتم تغيير الظروف بسرعة إلى ظروف معاكسة مما يؤدي إلى الضغط التناضحي ممايؤدي الى تحلل الخلايا . والسبب في ذلك أن الماء يتدفق بسرعة من تركيز الملح المنخفض الى التركيز العالي. وهكذا ، إذا تعرضت الخلايا لأول مرة محلول عالي التركيز ، يتدفق الماء إلى الخلية بعد التعرض لتركيز قليل من الملح. ونتيجة لذلك ، يزداد الضغط في الخلية وينفجر على العكس ، إذا الخلايا تتعرض لتركيز مرتفع من الملح بعد التعرض لتركيز منخفض ، يتدفق الماء خارج الخلية مما يؤدي إلى اضطراب الخلية.



الطرق الانزيمية : يختلف جدار الخلية من الخميرة والفطريات بشكل كبير عن بكتيريا جدار الخلية. والشائع هو استخدام خليط الانزيم المستخدم لتحلل جدار الخلية من الخميرة والفطريات. إضافة الى الإنزيمات التي يشيع استخدامها لتحلل جدار الخلية من الخميرة والفطريات تشمل cellulases, pectinases, xylanases and chitinases. ، يعد استخدام الإنزيمات في عملية تحلل الخلايا من أفضل الطرق ، لكن ارتفاع سعر الإنزيم ومحدودية توافره يحد من استخدامه على نطاق واسع في عمليات الاستخلاص.

ثالثًا : طرق الاستخلاص Extraction methods

يتضمن استخلاص المنتجات الحيوية فصل وتركيز تلك المنتجات . وتستخدم هذه الطريقة للحصول على منتجات خلوية تفرز خارج أو داخل الخلية والتي تتحرر بعد معاملتها بطريقة مناسبة .وتتلخص الطريقة في مزج المعلق الذي يحتوي على المنتوج المرغوب مع مذيب غير قابل للامتزاج ويذوب فيه المنتوج بصورة جيدة ثم استرجاعه بسهولة .إن عملية الاستخلاص تتم بعدة طرق أما يتم الاستخلاص بخطوة منفردة أو استخلاص متعدد المراحل.

رابعًا : طرق التركيز Concentration methods

تكون عادة منتجات التقنية الحياتية ذات تركيز واطئ ويزداد هذا التركيز في خطوات الفصل الابتدائية مثل الاستخلاص وعموما يجب تركيز هذه المنتجات قبل تنقيتها .يجب العناية في اختيار طرق التركيز لان عدد من المنتجات غير ثابتة وأهم هذه الطرق:

1- التبخير Evaporation

تستخدم عادة مع المستخلصات التي تم الحصول عليها بواسطة الاستخلاص بالمذيبات ثم يتم استرجاع المذيبات المتبخرة، وتستخدم في هذه الحالة عادة مجففات الرذاذ spray dryer كما يسمح باستخدام اجهزة التبخير المستمرة لتركيز المنتجات الحساسة للحرارة وكذلك المبخرات ذات الغشاء الرقيق التي تستخدم في تركيز السوائل اللزجة التي يصل التركيز فيها الى اعطاء منتوج جاف.

2- الترشيح الغشائي Membrane filtration

حيث يتم التركيز دون تبخير أي باستخدام درجات الحرارية العادية ويجب ان يكون الضغط المسلط على الغشاء اعلى من الضغط الازموزي وتستخدم اغشية تسمح اغشية بعبور الجزيئات حسب أوزانها الجزيئية .المشكلة الرئيسية في هذه المرشحات هي عمر الغشاء الذي يتأثربشكل كبير بدرجة نظافتها حيث ان عدم تنظيفها بصورة كافية تؤدي الى انخفاض معدل الجريان وتلوثها بمنتجات اخرى أو احتمال تلوثها بالاحياء المجهرية.

3- راتنجات الادمصاص والتبادل الايوني Ion exchange and adsorption resins

كما هو الحال في استخدام الفحم النباتي المنشط active charcoal حيث تعطي هذه الطريقة تركيزاً عاليا جداً وفي خطوة واحدة فقط.

أ- راتنجات التبادل الايوني :

وهي عبارة عن بوليمرات تحمل مجاميع قابلة للتأين ومرتبطة بها بقوة وهذه المجاميع أما أنيونية أو كاتيونية وتكون في حالة متأينة أو غير متأينة، و استعمالها يكون أما بطريقة الوجبات وذلك باضافتها على شكل وجبات ثم يزال الراتنج بطريقة التركيد decantation أو تعبأ في اعمدة الفصل الكروماتوغرافي.

ب- راتنجات الادمصاص :

وهي عبارة عن بوليمرات مسامية والتي تعمل مجاميعها الفعالة على تحوير الاستقطابية دون أجراء التأين، واغلب المركبات تدمص بحالتها الكاملة وتسترجع بالاستخلاص بمذيبات عضوية وتغير رقم الحموضة أو القوة الايونية للطور السائل.

خامسًا : تنقية المنتجات Products purification

1- التبلور **Crystallization**

وعادة تستخدم في تنقية المركبات ذات الوزن الجزيئي الواطئ مثل المضادات الحياتية كما هو الحال في تنقية البنسلين **G** حيث يستخلص من وسط التخمر بواسطة خلات البيوتايل ويبلور بإضافة خلات البوتاسيوم في محلول كحولي(أثيلي) وتتبع الخطوات نفسها في فصل وتنقية أكيتومايسين.

2- طرق الكروماتوغرافي **Chromatographic methods**

تستخدم هذه الطرق في فصل المركبات ذات الاوزان الجزيئية الواطئة في حالة وجود حاجة لفصل مزيج من مكونات متشابهة كذلك تستعمل في فصل الجزيئات الكبيرة مثل الانزيمات في حالة تواجدها مع مركبات ذات طبيعة متشابهة وهناك عدة انواع من الكروماتوغرافي وهي:

كروماتوغرافي الادمصاص ، كروماتوغرافي التبادل الايوني ، كروماتوغرافي الالفة، كروماتوغرافي الترشيح الهلامي.

سادسًا : التجفيف Drying

تعد الخطوة الاخيرة في العديد من المنتجات الحيوية للحصول على منتجات ثابتة وملائمة للتداول والخزن، ويجب إزالة الرطوبة من المنتجات عند درجات حرارة منخفضة وذلك لحساسيتها للحرارة العالية و يمكن تحسين الثباتية الحرارية للمنتجات في بعض الحالات كما هو الحال مع الانزيمات والمواد الصيدلانية وذلك باضافة السكريات أو بعض المثبتات الخاملة وهناك عدة طرق للتجفيف منها :

التجفيف تحت التفريغ Vacuum ، التجفيف بالرذاذ spray dry ، التجفيد. freeze

المصـــــــــــــــــادر :

الكتب المنهجية :

- التكنولوجيا الحيوية ، تأليف الدكتور فائز عزيز العاني العاني.(1993).
- التقنية الحيوية، تأليف الدكتورة زهرة محمود الخفاجي.(1990).
- https://mycourses.aalto.fi/pluginfile.php/398454/mod_folder/

2020/4/28 11:00 AM