المقدمة

توجد الكائنات الدقيقة منتشرة في الطبيعة فهي توجد في الماء والهواء والتربة ، كما تعيش في الأغذية وخارج وداخل أجسامنا . وفي أيّ نظام بيئي تشكل الكائنات الدقيقة أكبر أعداد الكائنات الحية بأيّ وسط بيئي عند مقارنتها بأعداد الكائنات الأخرى الموجودة بذلك الوسط .

يبحث فرع علم الأحياء الدقيقة التطبيقي في إمكانية استغلال الكائنات الدقيقة في إنتاج بعض المنتجات التي تلزم الإنسان ، وبذلك يمكن اعتبار الكائنات الدقيقة مصانع صغيرة قادرة على إحداث تغيرات كيميائية عديدة في كثير من المواد ، فبعض الكائنات الدقيقة قادرة على تحليل المخلفات العضوية النباتية ، الحيوانية والصناعية وإعادة تدويرها حيث يمكن استخدامها كغذاء لكائنات أخرى أو لإضافتها للتربة بهدف زيادة خصوبتها ، إضافة إلى ذلك ينتج غاز CO_2 الذي يعمل على توازن دورة الكربون في الطبيعة ، وغاز الميثان الذي يستخدم كبديل للطاقة .كما أن بعض الكائنات الدقيقة قادرة على تكوين كربوهيدرات وبروتين من مواد بسيطة موجودة في الجو مثل CO_2 ، N_2 مما يوفر غذاء لكائنات أخرى عديدة .

ومن الناحية الصناعية تعتبر الكائنات الدقيقة ضرورية لإنتاج بعض الأغذية والمنتجات اللبنية وعمل تغيرات مفيدة بالمادة الغذائية فتحولها إلى منتج مقبول الشكل ومستساغ الطعم ، وهناك كائنات دقيقة يمكنها إجراء تخمرات صناعية نافعة كما في صناعة الكحول والخل وفي إنتاج مضادات الحيوية .

توجد علاقة وثيقة بين علم الصناعة باستخدام الكائنات الدقيقة وبين العلوم الأخرى بدأً بعلم الكائنات الدقيقة وعلم الكيمياء الحيوية والتحليلية والفسيولوجيا والتغذية إلى غيرها من العلوم التطبيقية ، فمثلاً في عملية التخمر الميكروبي لإنتاج الكحول تحدث تحولات كيميائية تؤثر عليها العوامل والظروف التي تؤثر على أيّ تفاعل كيميائي ، كما أنها عملية فسيولوجية حيوية تحدثها الأحياء الدقيقة ، وترتبط أيضاً بعلم الوراثة فصفة إنتاج ناتج معين من الكائن الحيّ تعتبر صفة وراثية سواء في كميتها أو نوعها لذلك فإنه من الضروري إجراء عملية الانتخاب الوراثية للحصول على السلالات التي تشتهر بكثرة إنتاجها .

قد يظن البعض أن من السهل استغلال أو توجيه الكائنات الدقيقة لتكوين ناتج اقتصادي معين ، فقد يمكن لكائن دقيق أن يكون مواد معينة في البيئة تكون ذات أهمية كبيرة ولكن لا يمكن استغلال هذه الطريقة لكي تحقق الربح الاقتصادي وذلك لصعوبة تحويل الإنتاج

وقد لجأ الإنسان لاستعمال الأحياء الدقيقة في كثير من الأمور مثل إنتاج مضادات الحيوية لعلاج الأمراض المسببة بواسطة الكائنات الدقيقة المرضية ، وكذلك إنتاج كثير من المواد الغذائية أو الصناعية الهامة مثل الخبز ومنتجات الألبان والمخللات والفيتاميات والإنزيمات والبروتينات والدهون والأستيرويدات والأحماض العضوية والكحولات وأيضاً إنتاج المتفجرات وغيرها من المركبات .

كما لجأ الإنسان إلى الأحياء الدقيقة في مكافحة الحشرات وزيادة خصوبة التربة والتخلص من الفضلات الزراعية والبشرية والكشف عن أماكن وجود البترول .

ويرجع للأحياء الدقيقة الفضل في تطوير معلومات الإنسان في مجالات علوم المناعة والوراثة والكيمياء الحيوية والهندسة الوراثية والطب وحفظ الأغذية والدراسات البيئية والعديد من المجالات الأخرى مثل مجال الحرب الحيوية (البيولوجية) .

الصناعات التخمرية
Industrial Fermentations

إن اهتمام الإنسان ومحاولته الاستفادة من نشاط الكائنات الدقيقة يعود إلى عصور ما قبل التاريخ ، ولكن لم تستخدم هذه الأنشطة في الصناعة إلاّ في حوالي منتصف القرن العشرين وذلك نتيجة التعاون الذي نشأ بين كل من علماء الأحياء الدقيقة والمهندسين وأصحاب رؤوس الأموال لتطوير الصناعات القائمة على استخدام الكائنات الدقيقة .

أصبح بالأمكان إنتاج كميات كبيرة من المنتجات النافعة مثل الكحولات والأحماض العضوية والإنزيمات والفيتامينات ، وذلك عن طريق السيطرة على أنشطة الكائنات الدقيقة المنتجة لها .وتتلخص الصناعات الميكروبيولوجية في تنمية الخميرة أو البكتيريا أو الفطريات حسب الصناعة المطلوبة في حاويات كبيرة جداً تسع حوالي ٥٠,٠٠٠ جالون .

وعملية تنمية الكائنات الدقيقة في الحاويات الكبيرة ليست عملية سهلة فهي تحتاج إلى أجهزة غالية الثمن جداً وعمال مدربين وأخصائيين للوصول بالصناعة المطلوبة إلى هدفها الأساسي ، كما تحتاج العملية أيضاً إلى مراقبة دقيقة لنشاط الكائن الدقيق ومحاولة التحكم في مسار التفاعلات بحيث يمكن التأثير على نشاط الكائن الدقيق أو إيقاف نشاطه قبل أن يحدث فقد للناتج المطلوب .

كذلك يجب التأكد من عدم وجود أيّ تلوث ميكروبي في حاويات التنمية ، هذا بالإضافة إلى تهيئة جميع الظروف البيئية المناسبة لنمو الكائن الدقيق المرغوب أو ظروف التحكم في زيادة المنتج . ويرجع نشاط الكائنات الدقيقة وقدرتها على الإنتاج إلى سرعة عمليات البناء في الخلايا وهذا مرتبط بصغر حجمها وقصر زمن التضاعف لأعدادها .

يعني "**التخمر الميكروبي**" أن الكائنات الحية الدقيقة هي الدعامة الأساسية لهذه العملية سواء كانت خمائر ، بكتيريا ، فطريات أو طحالب ، وتختلف المنتجات الصناعية باختلاف الكائنات المستخدمة .

ومن الوجهة العلمية فإن كلمة " **تخمر**" تعني الأكسدة البيولوجية غير الكاملة للمواد العضوية عن طريق نشاط الإنزيمات المفرزة بواسطة الكائنات الدقيقة إلى منتجات بسيطة تحت الظروف الهوائية أو اللاهوائية .

والمنتجات المتكونة عن هذا النشاط تعتمد على نوع الكائن الدقيق ، على وجود أو عدم وجود الأكسجين ، على درجة تركيز أيون الهيدروجين ، على نوع المادة الخام وكذلك على العديد من الظروف البيئية الأخرى .

والتحكم في النشاط البنائي للكائنات الدقيقة أتاح للميكروبيولوجيين المهتمين بالصناعة الفرصة **لإقامة وتطوير ثلاثة أنواع أساسية من الصناعة الميكروبيولوجية :**

- **إنتاج نمو ميكروبي cultiration and harvesting :**

يمثل النوع الأول الخطوة الأولى في الصناعات الميكروبية وهي إنتاج نمو ميكروبي بمعنى تنمية الكائنات الدقيقة في ظروف بيئية ملائمة للحصول على أكبر عدد من خلايا الكائن الدقيق وجمع هذه الخلايا لاستخدامها كغذاء أساسي للإنسان أو الحيوان ، أو تضاف إلى الغذاء ، أو يمكن استخدامها كملقحات لبعض الصناعات الميكروبيولوجية الأخرى . ومثال ذلك إنتاج الخميرة الجافة النشطة أو الخميرة المضغوطة المستعملة بواسطة الإنسان أو استخدام الخميرة كعلف للحيوانات .

- **التحولات البيولوجية bioconversion :**

وفي هذا النوع يعتمد على استخدام ميكروبات معينة تعمل كمصانع تحدث تغيرات إنزيمية لبعض المركبات الكيميائية المعينة لتعطي نواتج أخرى لها نشاط بيولوجي مرغوب . ومثال ذلك تحول مركبات الاستيرول إلى مركبات الاستيرويدات sterols→steroids .

- **إنتاج نواتج أساسية أو جانبية للعمليات الحيوية بالخلية production of metabolic by products :**

وهذا النوع من الصناعات قائم على قدرة الكائنات الدقيقة على إنتاج كميات كبيرة من مواد معينة نتيجة للعمليات الحيوية البنائية بالخلايا ، ومثال لهذا النوع من الصناعة إنتاج الكحولات والإنزيمات وأنواع عديدة من الأحماض والمذيبات ومضادات الحيوية . وهذه المواد تنتج عادة بعمليات تخمر ميكروبي لمواد خام متوفرة ، ميسرة وزهيدة الثمن .

ويمكن تقسيم الصناعات التخمرية حسب نوع الكائن الدقيق المستخدم في الصناعة إلى :

١. صناعات تخمرية قائمة على الخمائر :

وتشمل الأنواع الثلاثة من الصناعات الميكروبيولوجية التي سبق ذكرها :

- صناعات للحصول على الخلايا نفسها لاستخدامها كغذاء أو لاستخلاص الفيتامينات ومرافقات الإنزيمات منها .
- صناعات لإنتاج مركبات معينة بالاستعانة بالنشاط الإنزيمي للخلايا .
- صناعات للحصول على نواتج البناء الخلوي .

ومن **أهم الخمائر** التي تستخدم في هذه الصناعة *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces fragilis* .

٢. صناعات تخمرية قائمة على البكتيريا :

وتضم مجموعتين من الصناعات على أساس احتياج أو عدم احتياج البكتيريا المستخدمة في الصناعة للأكسجين .

المجموعة الأولى تشمل البكتيريا الهوائية aerobic bacteria . **وأهم الأجناس** التابعة لهذه المجموعة *Bacillus* sp. And *Acetobacter* sp. *Gluconobacter* . وأهم منتجات هذه المجموعة بعض أنواع الفيتامينات والإنزيمات والأحماض مثل حمض الخليك وحمض الجلوكونيك . وتتم عملية التخمر تحت الظروف الهوائية aerobic fermentation ويكون الأكسجين هنا هو المستقبل النهائي للهيدروجين .

أما المجموعة الثانية فتضم البكتيريا قليلة الاحتياج للأكسجين والبكتيريا اللاهوائية microaerophilic and anaerobic bacteria وتتم عملية التخمر تحت الظروف اللاهوائية أو في وجود كميات ضئيلة من الأكسجين anaerobic fermentation ويكون المستقبل النهائي للهيدروجين مواد أخرى غير الأكسجين . **وأهم الأجناس** التابعة لهذه المجموعة *Lactobacillus* sp. , *Propionibacterium* sp. And *Clostridium* sp. وتضم هذه الأجناس سلالات عديدة مسئولة عن كثير من الصناعات التخمرية مثل إنتاج حمض اللاكتيك والألبان المتخمرة وبعض أنواع الجبن وأيضاً إنتاج البيوتانول والإيزوبروبانول والأستيون .

٣. صناعات تخمرية قائمة على الفطريات :

من أمثلة الصناعات التخمرية القائمة على الفطريات الصناعات الدوائية وإنتاج بعض أنواع مضادات الحيوية ، صناعة بعض أنواع الجبن ، صناعات لإنتاج بعض الإنزيمات والأحماض العضوية ، هذا بالإضافة إلى استخدام الفطريات كمصدر للبروتين والدهون ، ومن **أهم أجناس** الفطريات المستخدمة في الصناعة *Penicillum* sp. And *Aspergillus* sp. .

المزارع المستخدمة في الصناعات التخمرية :

من المهم دراسة طرق الحصول على المزارع الملائمة للصناعات التخمرية ودراسة كفاءتها والحفاظ عليها في صورة نقية . ويضاف الكائن الدقيق إلى أوساط التغذية كمزرعة نقية مفرده أو نقية مختلطة وتستخدم في صناعات مختلفة مثل صناعة الألبان المتخمرة ، صناعة بعض أنواع الزبد ومعظم أنواع الجبن ، وفي بعض الأحيان يُكتفي بما يوجد على المواد الخام من كائنات دقيقة مختلفة مرغوبة تقوم بعملية التخمر كما هو الحال في صناعة المخللات .

وتعتمد الصناعات التخمرية على الآتي :

- **انتخاب المزارع :**

وتعتبر الدعامة الأساسية التي تتوقف عليها كفاءة الإنتاج ودرجة جودته عند تطبيق الظروف المثلى . ومن أهم الصفات التي يجب أن تتوفر في السلالة المنتخبة مايلي :

☒ أن تكون ذات قدرة ثبات عالية .

☒ ذات معدل نمو عالي خاصة في حال استخدامها في إنتاج نمو لكائن دقيق .

☒ لها قدرة عالية على إنتاج المنتج المستخدمة من أجله .

☒ لها قدرة عالية على الاستفادة من المواد الخام المستخدمة .

☒ أن تكون درجة احتياجها لعوامل النمو الإضافية قليلة بقدر الإمكان حتى لا تكون مكلفة بالنسبة للإنتاج.

- **المحافظة على نشاط المزرعة :**

يجب المحافظة على المزارع المنتخبة المستخدمة في الصناعة كي تظل محتفظة بدرجة نشاطها ودرجة نقاوتها باستمرار ، وذلك بنقلها على البيئة المناسبة وتحضينها حتى يصل عمر المزرعة إلى طور الثبات ، ثم تحفظ على درجة حرارة منخفضة لمنع حدوث أيّ نمو آخر وكذلك لمنع حدوث أيّ تغير غير مرغوب فيه . وبعد تجهيز المزارع الأصلية stock cultures تخزن بطريقة مناسبة لتفادي الحاجة إلى إجراء تجديد مستمر لها على فترات متقاربة لأن هذا يؤدي في معظم الأحياء إلى تلوث بالمزرعة الأصلية ، وكذلك حدوث طفرات غير

Lyophilization وهي

الطريقة السائدة لحفظ معظم أنواع المزارع البكتيرية والفطرية . وقد تستخدم طرق أخرى للحفظ منها إضافة زيت البرافين المعقم فوق المزرعة ثم إجراء عملية لحام وغلق للأنابيب وكذلك تستخدم في بعض الأحيان طريقة تجفيف الجراثيم .

- **المحافظة على نقاوة المزرعة :**

يجب التأكد بين الحين والآخر من نقاوة المزرعة المستخدمة في التصنيع ويتم اختبارها بالطرق الآتية :

الفحص الميكروسكوبي : تستخدم هذه الطريقة في حالة تلوث المزرعة الأصلية بميكروب مخالف للميكروب الأصلي في الشكل الظاهري . وهذه الطريقة تعتبر غير مجدية إذا استخدمت بمفردها للكشف عن التلوث نظراً لأن الكشف عن التلوث باستخدام هذه الطريقة يستلزم وجود الميكروب الملوث بأعداد كبيرة .

استخدام طريقة الأطباق المصبوبة باستخدام بيئة غير مناسبة لنمو الكائن الدقيق الأصلي : وبهذا ينمو الميكروب الملوث إن وجد وإن كانت هذه البيئة مناسبة لنموه . ولا تستخدم هذه الطريقة بمفردها للكشف عن التلوث .

الكشف عن وجود تفاعلات خاصة بالميكروب الملوث دون الكائن الدقيق الأصلي .

- **المزارع المختلطة :**

تحضر هذه المزارع من أكثر من نوع من الكائنات الدقيقة شرط أن يأخذ كل نوع من مزرعة نقية ، وتخلط هذه المزارع مع بعضها البعض بنسب معينة قبل استخدامها مباشرة في التصنيع . وأحياناً تنمى المزارع المختلطة مع بعضها باستمرار ومن أمثلة ذلك المزارع المختلطة التي تستخدم في الصناعات الغذائية .

المواد الخام المستخدمة في الصناعات التخمرية

يستخدم في مجال الصناعة التخمرية العديد من الخامات كمصدر للكربون والنيتروجين ، وتتوقف في كثير من الأحيان جودة المنتج على اختيار المصدر المناسب للصناعة . لذلك يتم الاختيار على عدة أسس أهمها :

١. أن تكون المادة الخام متوفرة بالبلد الذي تقوم به الصناعة بكميات كبيرة ورخيصة الثمن .

٢. أن تكون متوفرة على مدار السنة .

٣. أن يكون محتواها من مصدر الكربون مرتفع .

٤. أن يكون مصدر الكربون الأساسي بها ذو قابلية للاستفادة من قبل الكائن الدقيق.

٥. أن تكون المعاملات المبدئية التي يجب أن تجرى عليها بسيطة وغير مكلفة .

٦. أن تكون ذات درجة جودة عالية ، أيّ تحتوي بجانب مصدر الكربون نيتروجين وأملاح معدنية وعوامل النمو التي يحتاجها الكائن الدقيق .

٧. أن تكون من مصدر قريب من مكان التصنيع وذلك للتقليل من تكلفة النقل .

ومن أمثلة المواد الخام المستخدمة في الصناعة :

مستخلص منقوع الذرة corn steep liquor : يستخدم مستخلص منقوع الذرة كمصدر للكربون والنيتروجين والكبريت والأملاح المعدنية ، وهو عبارة عن ناتج ثانوي عند الحصول على النشا والسكر من الذرة . ويحتوي مستخلص منقوع الذرة على ٤٪مواد نيتروجينية وهذه تعطي عند تحللها أحماض أمينية سهلة الأمتصاص بواسطة الخلايا الميكروبية . ويوجد الكربون على هيئة حمض اللاكتيك وبعض المواد الكربوهيدراتية والسكريات المختزلة . يحتوي مستخلص منقوع الذرة على بوتاسيوم وكالسيوم وفسفور وبعض الفيتامينات وعناصر النمو المختلفة مثل الريبوفلافين ، نياسين ، بيوتين ، بيريدوكسين وبه كمية صغيرة من مركب phenyl ethylamine وتستغل هذه المادة في إنتاج penicillin G . وتختلف عادة نسب هذه المواد بالمستخلص حسب ظروف تنمية الذرة وطريقة استخلاص المنقوع .ولابد من إضافة كربونات الكالسيوم في حالة الاحتياج إلى وسط تخمري متعادل ، حيث أن مستخلص منقوع الذرة حامضي الوسط .

الشعير barley : يعتبر الشعير المادة الخام في صناعة البيرة ، ويحتوي على كمية كبيرة من الكربون في صورة نشا كما يحتوي على كمية صغيرة من النيتروجين . ويترك الشعير لينبت تحت ظروف معينة تسمح بعملية هضم جزئي للنشا بواسطة إنزيم الأميليز Amylase وتعرف هذه العملية باسم malting . والشعير الناتج "المولت malted barley" يهرس في الماء الساخن ويعقم ليعطي المهروس wort أو الوسط الذي يستخدم بواسطة الخميرة في صناعة البيرة .

السكروز sacrose : يستخلص من قصب السكر ومن البنجر . ويقسم حسب درجة نقاوته إلى :

- **السكر الأبيض النقي :** ويستعمل في المأكولات ولتحلية المشروبات .
- **السكر البني :** وهو السكر بصورته الطبيعية وهو غير منقى تماماً .

- **المولاس :** وهو أقل درجة نقاوة يوجد عليها السكروز . ويحتوي المولاس بجانب السكروز على سكريات مختزلة وأملاح معدنية ومواد عضوية وماء ، ويعتبر من مخلفات صناعة السكر سواء من القصب أو البنجر .وتقوم عليه صناعات عديدة مثل صناعة الكحولات المختلفة ، الخميرة والأحماض العضوية . **ويختلف التركيب الكيميائي والصفات الطبيعية للمولاس تبعاً لعدة اعتبارات :**
- صنف القصب أو البنجر المستخدم في الصناعة .
- العوامل المناخية خلال موسم الزراعة .
- العوامل الزراعية من نوع التربة والتسميد وغير ذلك .
- المعاملات التي قد تتم بعد الحصاد .
- العمليات التصنيعية التي تتم أثناء صناعة السكر .

ويوجد من المولاس ثلاثة أنواع :

- **مولاس به نسبة سكر مرتفعة high-test molasses :** ويمثل الناتج المركز بعد تبخير عصير القصب ، ويحتوي على جميع مكونات العصير الأصلية ، ويوجد السكر بنسبة ٧٨٪ . ويعتبر استخدام هذا النوع مكلف ، غير أن بعض الدول تستخدمه في بعض الصناعات التخمرية .
- **مولاس به نسبة سكر متوسطة black-strap molasses :** وهو عبارة عن السائل الأسود (العسل الأسود) الناتج من عملية الطرد المركزي الأوليّ لبلورات السكر من عصير القصب ، ويحتوي على ٤٨-٥٠٪ سكر في صورة سكروز .
- **مولاس به نسبة سكر منخفضة refinery molasses :** وهو السائل المنفصل بعد إعادة بلورة السكر . وهذا بالطبع أقل قيمة من الصنفين السابقين لانخفاض ما به من سكريات ومكونات أخرى .

<u>السليلوز cellulose :</u> توجد المواد السليلوزية على صورة مخلفات صناعية لصناعة قصب السكر أو صناعة الورق من الخشب أو مخلفات الحبوب المختلفة ويلزم عند استخدام السليلوز كمواد خام استخدام كائنات دقيقة لها القدرة على إفراز إنزيم السليوليز cellulase مثل جنس *Cellulomonas* sp. .

النشا starch : وهو عبارة عن المادة الكربوهيدراتية المختزنة في بعض النباتات مثل البطاطس ، الذرة والأرز ، وهو غير قابل للذوبان في الماء ويحلل بواسطة الأحماض المخففة أو الإنزيمات ليعطي الجلوكوز الذي يعتبر من أكثر السكريات استخداماً في عمليات التخمر .

العنب grab : تصنع المنتجات الكحولية من تخمر العنب ، حيث يخمر بواسطة الخميرة الموجودة على العنب أو بإضافة سلالات خاصة لهذا الغرض . ويحتوي عصير العنب على ١٧٪ سكر ، حمض التارتاريك ، حمض الماليك بنسبة ١٪ ، بوتاسيوم وفسفور ، ويستهلك السكر في تكوين الكحول .

فول الصويا soya bean : تحتوي بذور فول الصويا على حوالي ٤٠٪ بروتين ، ١٨,٥–٢٢٪ زيوت ، ١٥٪مواد كربوهيدراتية وحوالي ٥٪ عناصر مختلفة مثل البوتاسيوم ، الفسفور ، الكبريت والمغنسيوم إضافة إلى محتواها من الماء .ويستخلص زيت فول الصويا من البذور لاستخدامه في عمل السمن النباتي ، ويتبقى بعد ذلك مواد صلبه عبارة عن دقيق فول الصويا soyabean meal حيث يستخدم كعلف أو لزيادة خصوبة التربة أو في تحضير المنابت الغذائية الخاصة بعمليات التخمر . ويحتوي دقيق فول الصويا على ٨٪ مواد نيتروجينية وهي أكثر تعقيداً من تلك الموجودة في مستخلص منقوع الذرة لذلك لا يستغل بسهولة بواسطة الكائنات الدقيقة .

الهيدروكربونات Hydrocarbons : وتمثلها مواد مثل الغازات " غاز الميثان – الإيثان أو غازات البروبان والبيوتان " . ويمكن الحصول على هذه المواد من مصادر طبيعية أو صناعية واستخدامها كمواد خام في بعض الصناعات الميكروبية إنما يكون لسهولة التخلص منها في نهاية الإنتاج .

المخمرات Fermentors :

تتم التنمية الصناعية للكائنات الدقيقة في حاويات كبيرة الحجم تعرف بالمخمرات fermentors وتتراوح سعة المخمر بين ٥,٠٠٠ – ٢٠,٠٠٠ جالون حيث يضاف للمخمر المواد الغذائية الأساسية مثل المولاس أو مستخلص منقوع الذرة أو غير ذلك من المواد الغذائية المستخدمة في الصناعة للحصول على الخلايا أو الحصول على نواتج النمو ، أما في حالة الصناعة الخاصة بالتحولات البيولوجية bioconversion فيلزم استخدام أوساط غذائية صناعية خاصة تتكون من مواد كيميائية نقية . ويلقح المخمر بحجم معين من المزرعة يبلغ من ٥–١٠٪ من حجم الحاوية (البرميل) ، وهذا يعني أن المخمر البالغ حجمه ١٥,٠٠٠ جالون يحتاج إلى ١٥٠٠ جالون

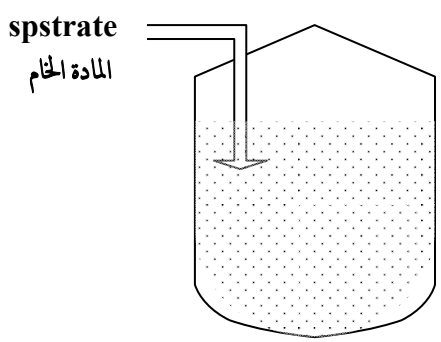
مزرعة نقية لبدء عملية التخمر . ويتم الحصول على هذه الكمية بتنمية الكائن الدقيق – الذي يحصل عليه من مزرعة آجار مائل stock culture التي يمكن الحصول عليها من معامل حفظ وتجميع المزارع culture collection – على مراحل متتابعة بحيث يستخدم في كل مرحلة كمية أكبر من الوسط الغذائي إلى أن نحصل على الكمية اللازمة لبدء عملية التخمر . وعملية تكرار التلقيح في كميات متزايدة من الوسط الغذائي تحتاج إلى وجود أماكن واسعة معقمة ، كما تحتاج إلى التأكد من عدم حدوث تلوث للوسط الغذائي سواء أثناء عملية التلقيح أو أثناء التنمية فترة التحضين . وللتقليل من هذه المشاكل يمكن الحصول على المزارع المطلوبة في حالة Lyophilized من معامل حفظ المزارع حيث يتم الحصول على الكمية المطلوبة من المزرعة في صورة مركزة وفي حجم معقول يمكن نقلة . وبمجرد تلقيح المزرعة في المخمرات في المصنع يجب المحافظة على جميع الظروف المناسبة لنمو وتكاثر الكائن الدقيق ، وتتلخص هذه الظروف في درجة الحرارة المثلى ، درجة تركيز أيون الهيدروجين المثلى ، درجة ملوحة الوسط ، المحافظة على الكائن الدقيق في حالة نقية والتحكم في كثافة الخلايا . ونظراً لان كثير من عمليات التخمر تتم تحت ظروف هوائية ، لذلك يجب توفير مصدر هوائي معقم ويتم بإدخال هواء معقم إلى المخمر خلال فتحة في أسفله ، ويساعد في عملية التهوية وإذابة الأكسجين التقليب المستمر باستخدام مقلبات موجودة داخل المخمر ، وينتج عادة عن التقليب تكوين رغوة تصعد إلى سطح الوسط الغذائي السائل ، ولتلافي ذلك يتم إضافة مواد مانعة لتكوين الرغوة .

يختلف تصميم المخمر تبعاً للطريقة المتبعة في تنمية الكائن الدقيق ، وللمادة الخام المستخدمة وأيضاً تبعاً للمنتج المراد الحصول عليه . كما يراعى في تصميم المخمر أن يتحمل الضغط وأن يصنع من مادة غير قابلة للتآكل بواسطة نواتج التخمر خاصة إذا كانت النواتج أحماض ، كما يجب أن لا يكون لمادة التصنيع تأثير سام على الكائن الدقيق المستخدم في الإنتاج .

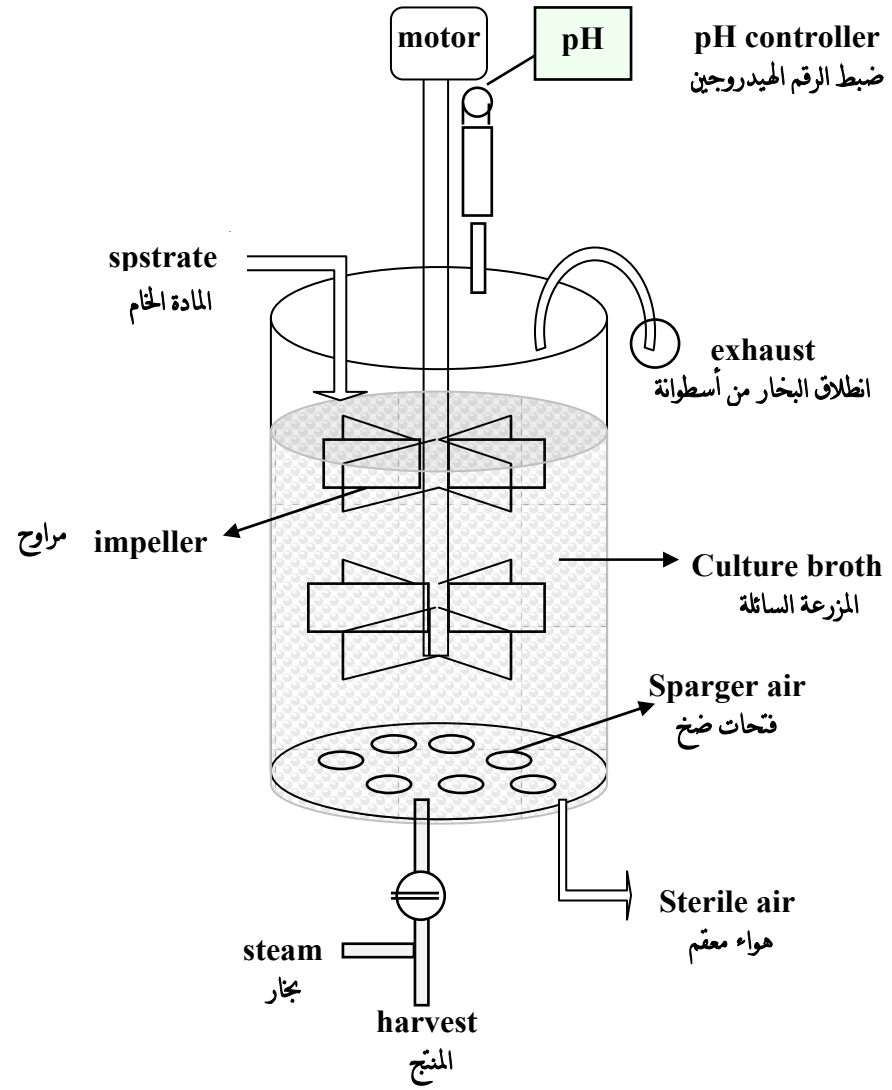
ويوجد **نوعين من المخمرات تستخدم في التخمرات الميكروبيولوجية :**

١. **مخمرات الدفعة الواحدة Fermentors of batch culturing :** هنا يضاف الكائن الدقيق (الملقح) إلى كمية محدودة من الوسط الغذائي السائل ، ومن ثم أكمال عملية التخمر بدون إضافة جديدة للمواد الغذائية أو سحب لناتج التخمر . ويصنع الجبن بهذه الطريقة .**شكل (١–أ)**

٢. **المخمرات المستمرة Continuous fermentors :** وتعتمد هذه الطريقة على الحفاظ على المزرعة في المرحلة اللوغاريتمية log phase وبذلك يسمح للكائن الدقيق أن ينمو لمدة طويلة بنفس المعدل حتى يتم إيقاف العملية . وتستخدم هذه الطريقة لإنتاج مضادات الحيوية والأحماض العضوية .**شكل (١–ب)**



شكل (١–أ) : مخمرات الدفعة الواحدة Fermentors of batch culturing



شكل (١–ب) : المخمرات المستمرة Continuous fermentors

إنتاج خميرة الخباز
Production of Baker's Yeast

تصنع الخميرة في الولايات المتحدة بطريقتين حيث يمكن أن تنمى الخميرة على منبت المولاس والأملاح المعدنية ، كما يمكن أن تصنع باستعمال منبت الحبوب وذلك لظروف اقتصادية . وتستخدم خلايا خميرة *Saccharomyces cervisiae* لتميزها بصفات تتلخص في التالي :

١. لها قدرة ثبات عالية .
٢. لها معدل نمو عالي .
٣. لها قدرة عالية على تخمير السكر وإنتاج CO_2 بنسبة عالية الذي يسبب انتفاخ معقول في العجين عند استخدامها في صنع الخبز ، وهذا يتطلب وجود معدل تنفس عالي ومعدل تكوين كحول بطيْ .
٤. لها خاصية الانتشار في الماء بسرعة عند استرجاعها .
٥. تتحمل التخزين مدة طويلة دون أن تتحلل .

ويعتبر المنبت المحتوي على المولاس والأملاح المعدنية بالنسب الآتية مناسباً للإكثار الصناعي للخميرة :

السكر : المولاس الذي يحتوي على السكروز والجلوكوز الفركتوز والتركيز النهائي للسكريات يكون في حدود ٧–٩٪ .

الأغذية المعدنية : كبريتات الأمونيوم وفوسفات الأمونيوم أو الكالسيوم ، يوريا ، أو نبت الشعير ويمكن استخدام مصدر نيتروجيني عضوي آخر ويكون التركيز النهائي للأغذية النيتروجينية ٠,٢–٠,٤٪ .

أملاح غير عضوية : فوسفات وكميات قليلة من أملاح أخرى توجد بالمولاس أو تضاف محاليها ويكون التركيز النهائي للفوسفات ٠,١–٠,٣٪ .

مواد منشطة للنمو : مستخلص الخضروات أو الحبوب أو الخميرة ، كميات صغيرة من مصادر غنية بالفيتامينات أو مركز الفيتامينات أو فيتامينات نقية . ووسط المنبت حامضي حيث يضبط الرقم الهيدروجيني ٤,٣–٤,٥ بإضافة الأحماض المعدنية مثل حمض الهيدروكلوريك ، الفوسفوريك ثم يروق لإزالة ما يمكن إزالته من المادة الملونة من المولاس .

التصنيع :

يجب في زريعة الخميرة "inoculum " التي تضاف إلى المنبت الكبير الحجم من المولاس والأملاح المعدنية والمجهز في المخمر أن تحضر بعملية بناء تدريجية في منبت مولاس مشابهة في التركيب لذلك المستعمل في النهاية في إنتاج الخميرة على نطاق واسع .

ومزرعة الخميرة الأصلية *Saccharomyces cervisiae* التي ستستخدم كالزريعة الأولى يجب أن تحفظ على حالة نشيطة حية وذلك بتكرار زراعتها على منبت آجار المولاس والأملاح المعدنية ، ويلقح منبت المولاس والأملاح المعدنية الموضوع في الدورق الصغير بالخميرة النامية على مزرعة الآجار المائل . يوضع الدورق عقب التلقيح على درجة حرارة ٢٥–٣٠°م حتى يصل النمو إلى الطور الثابت ، ثم تنقل الخميرة تحت ظروف معقمة من الدورق السابق إلى دورق أكبر يحتوي على منبت معقم من المولاس والأملاح المعدنية . تكرر العملية مع تكبير حجم المنبت في كل مرة إلى أن تلقح المزرعة الأخيرة المخمر الذي يحتوي على المنبت ، وفي المزرعتين الأخيرتين يمرر الهواء حتى نحصل على أكبر كمية من الخلايا . ونحصل على خلايا الخميرة من المزرعة النهائية الموجودة في المخمر بفصلها من السائل باستخدام الطرد المركزي ، ويستخدم المعلق الثقيل المتحصل عليه في تلقيح منبت كبير الحجم من المولاس والأملاح المعدنية . وبهذه الطريقة يمكن الحصول على خلايا الخميرة نشيطة وبأعداد كافية يمكنها أن تنمو بسرعة في منبت كبير الحجم (المخمر) وتصل في نموها إلى الطور الثابت في أقصر مدة ممكنة ، وعادة يلقح المنبت الموجود في البرميل الذي ستنمو فيه الخميرة بنسبة ٣–٥ أرطال من خلايا الخميرة الرطبة لكل ١٠٠ جالون من المنبت . وبعد إجراء التلقيح تضبط درجة الحرارة عند ٣٠°م والرقم الهيدروجيني عند ٤,٣–٤,٥ مع تمرير الهواء المرشح بدرجة سريعة فيها .ويجب الاحتفاظ بالشروط الهوائية لتحصل الخميرة على أكبر كمية ممكنة من الطاقة :

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \xrightarrow[\text{Aerobic condition}]{\text{Yeast under}} 6CO_2 + 6H_2O + E$$

كما تنتج الخميرة تحت ظروف المصنع كميات قليلة من الكحول والأحماض العضوية مما يدل على أنها لا تقوم بأكسدة كل السكر الذي تستخدمه أكسدة تامة . ومع ذلك فتحت الظروف الهوائية يؤكسد معظم السكر ويكون نمو الخميرة أفضل عما يحدث في حالة الظروف اللاهوائية حيث تحصل الخميرة على طاقة أقل من السكر وتنمو ببطء ، وفي أثناء النمو تمثل الخميرة المواد النيتروجينية والفوسفاتية والأملاح الموجودة في المنبت . وتقوم الخميرة بتحضير الفيتامينات في خلاياها من محتويات المنبت خاصة فيتامين B المركب .

وتحت الظروف المثلى يتم الحصول على الكمية القصوى من الخميرة في المخمر خلال حوالي ٨–١٠ ساعات ، وفي أثناء هذا الوقت تزداد كمية خلايا الخميرة من ٣–٥ أرطال في كل ١٠٠ جالون من المنبت تقريباً إلى ١٦–٢٠ رطل في كل ١٠٠ جالون أيّ بزيادة ١٣–١٥ رطل من الخلايا الرطبة لكل ١٠٠ جالون من المنبت .

وعندما يصل نمو الخميرة في المخمر إلى أقصى درجة ، ينقل السائل الموجود مباشرة إلى الفراز ، وقد يستبعد السائل الخالي من الخميرة والذي يحتوي على ٠,٣–٠,٥٪ من الكحول أو يستعمل في صناعة الخل . أما قشدة الخميرة yeast cream وهي عبارة عن معلق خلايا الخميرة الكثيف والمتحصل عليه من الفراز فيمر خلال مرشح كباس filterpress للتخلص من السائل الزائد في عجينة خلايا الخميرة ، شكل (٢) . وقد تخلط العجينة بعد ذلك بكمية قليلة من زيت صالح للأكل أو بنشا وزيت ثم تضغط وتشكل على هيئة أقراص وتغلف وتحفظ عند درجة صفر –٢°م ، وتوزع أقراص الخميرة المضغوطة على الخبازين بسرعة وهي في درجة حرارة منخفضة.

حفظ الخميرة المضغوطة :

الخميرة المضغوطة قابلة للفساد ، فالخلايا التي تصنع منها أقراص الخميرة المضغوطة تؤخذ من المنبت بعد الطور الثابت من نموها ، وتحتوي على ٦٥–٧٠٪ ماء وتقوم بعملية التنفس الداخلي فتستنفذ المواد المخزنة في الخلايا إذا ارتفعت درجة الحرارة عن درجة الصفر، ويؤدي هذا النوع من التنفس إلى سرعة موت الخلايا وبالتالي تحللها ، وعند التحلل يصبح قرص الخميرة طرياً وذا طعم ورائحة مخالفين للخميرة الطازجة ويمكن تأخير هذه العملية بالتخزين عند درجة صفر –٢°م . وقد تنمو الفطريات أو الخميرة الغشائية أو الأكتينوميستس أو البكتيريا على سطح قرص الخميرة أو في داخله وقد يكون النمو بدرجة كبيرة يؤدي إلى الفساد . وأول خطوة لمنع الفساد الناشئ من التلوث هو تجنب التلوث أثناء إنتاج وتداول الخميرة . ومن المحاولات التي تبذل لتقليل التلوث ترشيح الهواء الذي يمرر في المخمرات ، وتنظيف الأدوات نظافة تامة وتعقيمها وتعقيم الأواني المستعملة ومعدات التعبئة ، والخطوة الثانية هي التخزين عند درجة الصفر المئوي .

حفظ الخميرة بالتجفيف :

يمكن حفظ الخميرة المستعملة للخبز أو الطعام بدون تبريدها إذا جففت مباشرة عقب صناعتها ، وتحفظ الخميرة المستعملة كغذاء للمواشي أو للإنسان عادة بالتجفيف على هيئة مسحوق يحتوي تقريباً ٢–٤٪ ماء ، والخميرة المجففة بهذه الطريقة مثل اللبن المجفف تُحفظ طالما أبقيت بعيدة عن الرطوبة وخلايا الخميرة المجففة بهذه الطريقة غير حية .

وتتميز الخميرة المنتجة كغذاء للإنسان عن المنتجة كغذاء للحيوان في الآتي :

١. صفات الجودة فيها مرتفعة.
٢. درجة التلوث بالبكتيريا والفطريات فيها منخفض كثيراً .
٣. تحتوي على نسبة مرتفعة من الفيتامينات.
٤. المحتوى البروتيني فيها أكبر منه في المنتجة كغذاء للحيوان.
٥. تتميز بالرائحة الجيدة واللون الفاتح .

وعند عمل خميرة مجففة للخبيز يجب أن يكون التجفيف بطريقة لا تسمح بموت الخلايا وفي نفس الوقت يجب أن يقل المحتوى المائي للخميرة إلى درجة لا تسمح بالتنفس النشيط للخلايا أو بنمو الكائنات الدقيقة الملوثة ، ويجب أن يتم التجفيف على درجة أقل من الدرجة المميتة وأن يتم استخدام طرق خاصة لتجنب الكائنات الدقيقة الملوثة أثناء التجفيف . ويمكن للخميرة المجففة أن تبقى حية مدة طويلة على درجة حرارة الغرفة ولو أن عدد الخلايا يتناقص بمرور الزمن ، وتخزين الخميرة الحية المجففة على درجات حرارة مرتفعة يسرع في قتل الخلايا . وفي **الخميرة الجافة المصنعة بالطرق القديمة** يجب إضافة محلول سكري وحفظها عند درجة حرارة ٢٦–٣٢°م لمدة ٦–١٢ ساعة قبل أن تصبح الخلايا نشيطة كثيرة العدد بدرجة كافية لتقوم بعملية التخمر . أما **الخميرة المصنعة بالطرق الحديثة** فيمكن استخدامها مباشرة دون الحاجة إلى المعالجة السابقة .

العوامل المؤثرة على الكفاءة الإنتاجية للخميرة :

تركيز السكر : من أهم العوامل التي تؤثر على كفاءة الإنتاج وجودته هي تركيز السكر والذي يتأثر بطريقة التغذية أثناء الإنتاج .

التهوية : تعتبر التهوية من العوامل المؤثرة أيضاً على الإنتاج ولا بد من زيادة معدل التهوية تدريجياً لزيادة معدل نمو الخلايا وانخفاض معدل التخمر .

درجة الحرارة : تختلف درجة الحرارة المثلى لنمو الخميرة من سلالة لأخرى ، وعامل الحرارة يؤثر تأثير كبير على معدل النمو وبالتالي على كفاءة الإنتاج وجودته ، ودرجة الحرارة المستخدمة في المراحل الأولى للإنتاج تتراوح عادة بين ٢٥–٢٦°م ، ثم يسمح لها بالارتفاع إلى ٣٠°م في نهاية مرحلة الإنتاج .

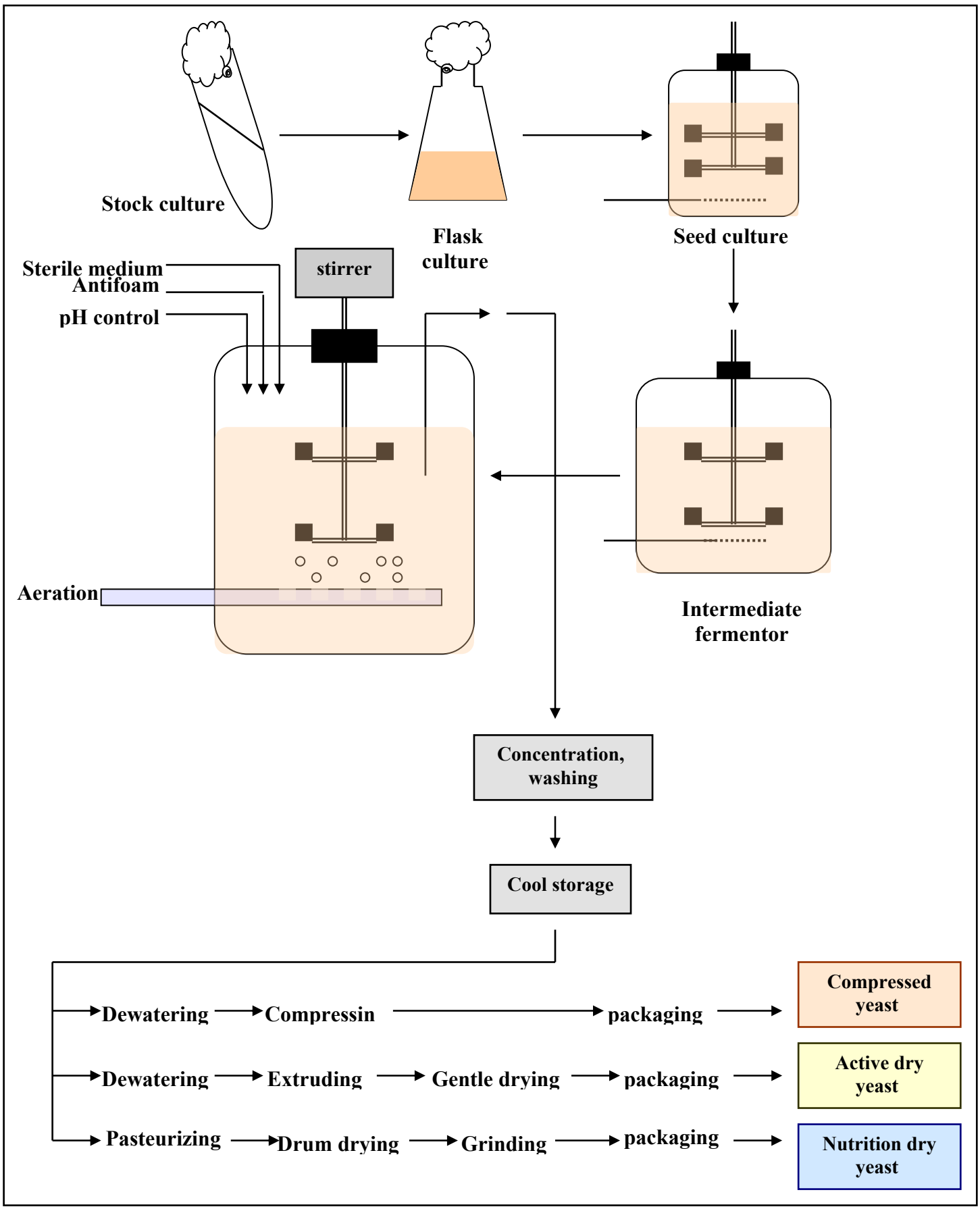
درجة الحموضة : يراعى استخدام رقم هيدروجيني منخفض ٣,٥–٤ في مراحل النمو الأولى ثم يرتفع بعد ذلك في المراحل النهائية ٥–٦ ، والهدف من ذلك هو المحافظة على عدم حدوث تلوث في المراحل الأولى لأن الحموضة الزائدة لا تلائم حدوث التلوث البكتيري ، كما أن الغرض من عدم الإبقاء على الرقم الهيدروجيني بهذا الانخفاض في المرحلة النهائية هو التقليل من إدمصاص المواد الملونة الموجودة بالمولاس على سطح الخلايا مما يؤدي إلى تغير لون المنتج فيصبح غير مقبول لدى الخبازين .

التقليب : يجب أن تظل الخلايا في حالة معلقة بوسط التخمر حتى يستفاد بأكبر قدر من التهوية والمواد الغذائية .

عوامل النمو : وجد أن الخميرة بجانب السكريات القابلة للتخمر والكميات اللازمة من المعادن والأملاح في البيئة المغذية تحتاج إلى كميات ضئيلة من عوامل نمو خاصة أهمها البيوتين ، البانتونانيت ، الإينوزيتول وبعض السلالات تحتاج إضافة إلى ذلك ريبوفلافين حمض النيكوتينيك وحمض بارامينوبنزويك .

الطرق المستخدمة في نقدير جودة المنتج :

١. اختبار قدرة التخمير وحساب حجم CO_2 الناتج من تخمير السكروز في بيئة محتوية على كبريتات مغنسيوم ، فوسفات بوتاسيوم وكلوريد صوديوم عند ٣٠°م لمدة ساعتين .
٢. تقدير نشاط بعض الإنزيمات المنتجة بواسطة الخميرة كدليل على جودتها .
٣. تقدير درجة التلوث البكتيري وتحديد نوعه .



شكل (٢) : رسم تخطيطي يوضح مراحل إنتاج خميرة الخباز المضغوطة والجافة والمستخدمة لتغذية الحيوانات .

دور الكائنات الدقيقة في صناعة

الجبن – اللبن الزبادي – المخللات

أولاً– ميكروبيولوجيا الجبن Microbiology of Cheese :

الجبن مجموعة من منتجات الألبان المتخمرة التي تصنع أساساً من اللبن بأشكال وأطعمة مختلفة في جميع أنحاء العالم . ويعتبر الجبن أولى منتجات اللبن التي ظهرت منذ فجر التاريخ ، حيث كانت تعتبر وسيلة لحفظ مكونات اللبن في صورة صالحة للاستهلاك لفترة أطول .

صناعة الجبن أساساً عبارة عن تركيز الكازين والدهن ٦–١٢ضعف تبعاً لنوع الجبن نتيجة لتجبن الجبن الكازين إنزيمياً أو حامضياً مع انكماش الخثرة وطرد الشرش حيث تتكون الخثرة التي يمكن أن تستهلك طازجة أو بعد التسوية لفترة من عدة أسابيع إلى سنة أو أكثر ، مما يضمن إطالة فترة صلاحيتها وسهولة نقلها ، كما تعتبر وسيلة لتنوع أغذية الإنسان .

يعتبر الجبن أهم منتجات الألبان في معظم دول العالم ، حيث يعتبر غذاء يتميز بقوة حفظ جيدة وارتفاع البروتين مع الدهون والكالسيوم والفسفور وبعض الفيتامينات ، ويعتبر بديلاً للأغذية البروتينية مثل اللحوم .

يتعرض اللبن المستخدم في صناعة الجبن لمعاملات مختلفة تهدف إلى إنتاج جبن مرتفع الجودة من خلال تحسين الصفات الطبيعية ، الكيميائية والميكروبيولوجية . وتتوقف جودة الجبن على تركيب اللبن خاصة محتواه من الدهن والكازين ، وكفاءة عملية تحويل اللبن إلى جبن ، والذي يؤثر في قوام body وتركيب texture الجبن .

تصنيع الجبن :

يحفظ اللبن المُجمّع لتصنيع الجبن في خزانات مبردة تحت درجات حرارة منخفضة لتثبيط نمو الكائنات الدقيقة وإطالة فترة حفظ اللبن ، حيث يعتبر تخزين اللبن من العمليات الهامة . وتتلخص عملية تصنيع الجبن في شكل (٣) .ويراعى بعض الشروط والمواصفات في أجهزة التصنيع لضمان جودة الجبن :

١. أن تكون الخزانات مصنوعة من مادة يسهل تنظيفها .

٢. أن تكون ملحقات الخزانات من مضخات وخطوط أنابيب نقل وتوصيل اللبن مصممة لمنع حدوث تلوث للبن .

٣. أن تكون الخزانات معزولة لعدم فقد أو كسب حرارة والمحافظة على درجة حرارة اللبن ثابتة طول فترة التخزين .

٤. أن تكون الخزانات مزودة بمقلبات أتوماتيكية لتقليب اللبن لمنع صعود الدهن على السطح وتكوين القشدة .

ويراعى عند اختيار البادئ تحديد نوع الجبن المراد إنتاجه أولاً هذا بالإضافة إلى بادئ بكتيريا حمض اللاكتيك التي تستخدم أساساً لإنتاج الحموضة بمعدلات مرغوبة خلال مراحل التصنيع ، وتستخدم البادئات الأخرى كبادئات مساعدة بهدف إحداث تغيير مرغوب في الجبن أثناء التسوية ، وقد تضاف إلى اللبن مع البادئ الأساسي أو تضاف إلى الخثرة . ومن أمثلة بادئات الكائنات الدقيقة المساعدة في صناعة بعض أنواع الجبن ما يلي :

١. فطر *Penicillium roqueforti* لإنتاج الطعم في الجبن المعرقة بالفطر Blue cheese .

٢. فطر *Penicillium caseiocolum* لإنتاج الجبن المسواة سطحياً بالفطر مثل البراي .

٣. بكتيريا *Propionibacterium* لإنتاج الجبن السويسرية وهي المسئولة عن الطعم وتكوين الثقوب.

٤. بكتيريا *Micrococcus varians* لإنتاج الطعم في بعض أنواع الجبن الجافة .

٥. بكتيريا *Enterococcus durans* لإنتاج جبن التشدر .

شكل (٣) : الخطوات الأساسية في صناعة الجبن .

ثانياً – صناعة اللبن الزبادي Yoghurt:

اللبن المتخمر من أقدم المنتجات اللبنية المعروفة للإنسان حيث عرف أن حموضة اللبن تزيد بسرعة بعد حلبة من الماشية ، كما عرف أن اللبن الحامض لا يحدث فيه أيّ تغيرات غير مرغوبة إلاّ تحت ظروف خاصة ، لذلك كان يحتفظ باللبن بطريقة تشجع على تكوين الحامض ليصبح قابلاً للحفظ عدة أيام .ويعتقد أن إنتاج الألبان المتخمرة قد تطور على النحو التالي :

١. شملت طرق الإنتاج استخدام نفس الأوعية بصفة مستمرة ، أو إضافة اللبن الطازج إلى عملية التخمر القائمة ، معتمدة بصفة أساسية على الفلورا الطبيعية الموجودة في اللبن لإتمام عملية التخمير .
٢. تسخين اللبن على اللهب مباشرة لتركيز اللبن بدرجة بسيطة ، وتبريد اللبن لدرجة حرارة الجسم مع التلقيح بلبن حامض من دفعة اليوم السابق .
٣. تحضير هذه المنتجات باستخدام ميكروبات معرّفة defined منذ بداية القرن التاسع عشر .

يصنع اللبن الزبادي عادة بعد نزع معظم الدهون منه وتجفيف بعض ما به ماء ، ثم يلقح بواسطة بكتيريا حمض اللاكتيك *Lactobacillus* sp. وبكتيريا *Streptococcus* sp. ،(تعطي الأولى الطعم المميز للبن والثانية الحموضة)، وكليهما ينمو عند درجات حرارة عالية وتستمر فترة التحضين عدة ساعات لتعطي الحموضة للبن ، كما تختلف درجة حرارة التحضين حسب نوع السلالة المستخدمة وما إذا كانت بكتيريا أو خمائر .

ثالثاً – صناعة المخللات Pickles :

يستخدم التخمر اللاكتيكي كطريقة لحفظ الخضروات مثل الخيار ، الكرنب ، الزيتون ، اللفت ، الجزر ، الفلفل وغيرها . والغرض الأساسي من عملية التخمير هو تحويل الخامات الزراعية من حالتها الطازجة إلى منتجات ذات طعم مميز لاستخدامها في الوجبات الغذائية، وصناعة التخليل من أكثر الصناعات التخمرية انتشاراً وسهولة وتعتبر أيضاً من الصناعات المنزلية . ويعتبر الملح ذو تأثير حافظ للأطعمة عندما تصل نسبته إلى ١٥٪ وكذلك الحموضة عندما تصل ٤–٥٪ ولا يستطيع المستهلك تحمل هذا التركيز من الملح والارتفاع من الحموضة ، لذلك تستخدم نسبة من الملح ٧–٨٪ وتركيز ٢٪ .

وتبدأ عملية التخمر بعد إضافة الملح في صورة جافة على الخضرة المحددة ويعمل الملح على سحب العصارة من أجزاء النبات بواسطة الضغط الأسموزي وتهيئ هذه العصارة للميكروبات المسئولة عن التخمر الوسط المناسب للنمو ، ويحد التركيز العالي للملح من نشاط بعض الميكروبات الطبيعية الموجودة وغير المرغوبة في عملية التخمر . والبادئ المسئول عن عملية التخمر عادة الفلورا الطبيعية الموجودة

على الخضرة ، إلاّ أنه يمكن إضافة بكتيريا *Lactobacillus plantarum*. وتمثل درجة الحرارة أهم العوامل المسئولة عن نجاح أو فشل هذه الصناعة والدرجة المثلى لبدء العملية ٢١°م وأيّ تغيير يؤثر في جودة المنتج نتيجة لتأثيرها على نشاط الكائنات المسئولة عن عملية التخمر خاصة بكتيريا البادئ .

إنتاج البروتين وحيد الخلية
Single cell protein (SCP)

من المشاكل التي تواجه العالم الحديث وجود نقص كبير في البروتين الغذائي والذي قد يؤثر على نمو وصحة الأطفال خاصة في الدول النامية، وتعتبر هذه الظاهرة أحد أسباب تأخر بعض الشعوب اقتصادياً واجتماعياً حيث تستلم هذه الشعوب مساعدات برعاية الأمم المتحدة تشمل الحليب المجفف كغذاء للأطفال عند حدوث مجاعة ، وبزيادة النمو السكاني زادت الحاجة لهذه المساعدات وأصبحت غير كافية، لذلك كان من الضروري البحث عن طرق لتركيز البروتين من مصادر أخرى غير مصادره التقليدية مثل لحوم الحيوان ومنتجاته.

بدأت صناعة استخلاص البروتين من النبات مثل فول الصويا وبذور القطن ، كذلك من الأحماض الأمينية المصنعة .

نالت الكائنات الدقيقة جزءاً كبيراً من هذا الاهتمام لسرعة تكاثرها ، وأهتم المعنيون في تركيز بروتينها وأطلق على البروتين المستخلص منها اسم بروتين وحيد الخلية single cell protein وكان الهدف هو تصنيع بروتين يستخدم كعلف حيواني في بادئ الأمر ثم تطور إلى طعام للإنسان مؤخراً ، ويجرى اختيار الكائنات الدقيقة وطرق تنميتها والمراحل التي يتم تصنيع البروتين والاختبارات التي تجرى على الكائن الدقيق بعد ذلك يتم بناء البروتين . ويتم اختيار الكائن الدقيق بناء على مجموعة من الأسس تتمثل في الآتي :

١. أن لا تكون من الأنواع المسببة للأمراض أو المولدة للسموم .
٢. أن يكون تصنيع البروتين منها ذو طبيعة خاصة ومقبولة عند تناولها كطعام .
٣. يعطي الكائن الدقيق كمية وفيرة من البروتين وذو نوعية غذائية جيدة أيّ أن له قيم عالية للفائدة الكلية البروتين أو الاحتفاظ بالنيتروجين ونسبة كفاءة البروتين .
٤. سرعة نمو عالية ولا يحتاج إلى أوساط زرعية ذات تكلفة عالية .

ويمكن اختيار الكائن الدقيق لصناعة البروتين الوحيد الخلية من الفطريات الخيطية ، الخمائر ، الطحالب والبكتيريا ومن أهم أنواع الخمائر التي نالت القسط الأكبر من الاهتمام في هذه الصناعة *Saccharomyces* sp. و *Torulpsis* sp. و *Candida* sp. وذلك لأنها مجربة في الغذاء مثل الخبز وغير ذلك .

أما الفطريات فكان اختيارها كمنتج للبروتين قليل نسبياً وذلك لأنها غالباً ما تكون سامة وهي بطيئة النمو وتحتوي على نسبة منخفضة ونوعية رديئة من البروتين وأهم الفطريات المستخدمة في هذه الصناعة *Aspergillus* sp. و *Fusarium* sp. و *Penicillium* sp. .

وتستخدم أنواع الطحالب *Chlorella* sp. و *Scenedesmus* sp. و *Spirulina* sp. .

ومن أنواع البكتيريا المستخدمة *Bacillus* sp. و *Hydrogenomonas* sp. .

الأوساط الزرعية : يوجد العديد من المصادر التي يمكن استخدامها كقاعدة substrate لتنمية الكائنات الدقيقة عليها ، وتشمل هذه المصادر ثلاث أنواع رئيسية :

١. مصادر طاقة أو مشتقات هذه المصادر مثل الغاز الطبيعي ، زيت الغاز ، الكحول الإيثيلي والميثيلي وحامض الخليك .
٢. الفضلات مثل الشرش whey الناتج من صناعة الجبن وسائل الكبريتيت من صناعة الورق وفضلات الحيوانات والمجاري و CO_2 .
٣. مواد من مصادر نباتية مثل النشا ، السكر ، السليلوز ، المولاس وغيرها .

وقد نالت المجموعة الثانية من هذه المصادر اهتمام واسع نظراً لضآلة أو انعدام كلفة شرائها ولاهتمام العالم بصحة البيئة باعتبارها ملوثة للبيئة حيث يتم التخلص منها والعمل على عدم رجوعها للبيئة بهذا الشكل . كما يمكن تحويل هذه الفضلات كيميائياً بالاختزال بواسطة CO إلى زيت يستخدم كمصدر للطاقة .

وعند تصنيع البروتين لا بد أن يخضع البروتين المصنع للشروط العامة للأغذية المصنعة ، وأهمها سلامته من الناحية الصحية بمعنى خلوه من الجراثيم وسمومها وارتفاع سيطرته النوعية أثناء تركيزه .

ومن خلال الدراسات حول بروتين وحيدة الخلية ظهرت مشكلة الأحماض النووية RNA وتركيزها العالي في هذه الخلايا لسرعة تكوينها للبروتين وتكاثرها ، ويتغير مستوى الحمض النووي RNA تبعاً لسرعة نمو الكائن الدقيق وقد تم حساب مستوى الحمض النووي RNA لبعض الكائنات الدقيقة مثل طحلب *Spirulina* وكانت نسبته حوالي ٥,٤٪ من الكتلة الحيوية ، وفي الخمائر بلغت حوالي ٦–١٠٪ ، وأعلى نسبة لها كانت في البكتيريا حيث بلغت ١٨٪ ، ويعد ذلك من العيوب الأساسية حيث يؤدي إلى تكوين حمض

اليوريك الذي يترسب في الكليتين مسبباً حصوات في الكلى للإنسان والقردة الراقية ، كما يسبب داء النقرس لذلك يجب أن لا يزيد معدل الأحماض النووية المستهلكة عن ٢جم لليوم الواحد . ويتحلل حمض اليوريك في الحيوانات الدنيا لإمتلاكها إنزيم uricase ، وبناء على ذلك فإن استهلاك مستويات عالية من الأحماض النووية لا يسبب لها مشاكل أيضية .ويمكن إزالة الزيادة في الأحماض النووية بعد النمو باستخدام الإنزيم المختص بتحليل حامض الرايبوزي RNA-ase .

ولابد من أن تتوفر خواص معينة في البروتين وحيد الخلية ومن هذه الخواص احتوائه على نسبة عالية من البروتين الخام والأحماض الأمينية ونسبة مقبولة من الكربوهيدرات والدهون والفيتامينات وبعض العناصر مثل الفسفور والبوتاسيوم والكالسيوم ، وأن يحتوي على نسبة منخفضة من الأحماض النووية إلى جانب سهولة هضمه واحتواءه على كمية عالية من الطاقة .

وأوصى العلماء بإضافة البروتين الميكروبي لبروتين الحبوب لأنه سيزيد من القدرة على تمثيل بروتين الحبوب وسيعوض ما ينقصه من أحماض أمينية مثل الليسين ، وعند تحليل البروتين وحيد الخلية كيميائياً وبيولوجياً وتقدير قيمته أتضح أنه يماثل أو أفضل من فول الصويا في محتواه من الحمض الأميني الليسين ، كما أنه أفضل من الحبوب المستخدمة كعليقة للطيور ، ولم يلاحظ أيّ تغير غير طبيعي في نمو الدواجن باستخدامه كغذاء لها ولم تسجل أيّ زيادة في مستوى RNA في صدور أو عضلات الدواجن ، وكان مستوى الحمض النووي تحت المستوى الآمن للاستهلاك البشري . ولقد أكد الكثير من العلماء سلامة البروتين وحيد الخلية من الناحية السميّة وارتفاع قيمته الغذائية وسهولة هضمه إذا استخدم في تغذية الحيوانات .

ميكروبيولوجيا الأغذية
Food Microbiology

ترتبط الميكروبات بطرق متعددة بكل الأغذية التي نتداولها مسببة تغيرات قد تكون مفيدة ، أو غير مرغوب فيها فتؤثر بذلك على نوع الغذاء وكميته ومدى الاستفادة منه . وتحتوي الأغذية من مصادرها الطبيعية على بعض الكائنات الدقيقة ، كما تتعرض للتلوث أثناء التداول مما يؤدي إلى تحلل الأغذية وفسادها ، ويمكن أن تنتقل الكائنات الدقيقة الممرضة عن طريق الأغذية فتسبب أمراض للمستهلك أو تفرز سموم تسبب تسمم الأغذية . وكما درسنا سابقاً تستخدم الكائنات الدقيقة في إعداد وتجهيز بعض الأغذية كالخبز ، صناعة المنتجات اللبنية كالجبن واللبن ، إنتاج المخللات وفي إنتاج البروتين الميكروبي .

تلوث الأغذية Food contamination :

تتعرض الأغذية للتلوث من مصادر عديدة قد تكون مصادر طبيعية كالحقل ، الهواء ، المياه ، الحيوانات ومخلفات المجاري أو أثناء التداول ، النقل ومعاملات التصنيع ، وبالتالي يحدد قابلية المادة الغذائية للحفظ ، نوع وسرعة الفساد الذي تتعرض له ونوع المعاملة المطلوبة لحفظها أنواع الكائنات الدقيقة الموجودة بالمادة الغذائية .

تعتبر الأنسجة الداخلية للنباتات والحيوانات السليمة خالية من الكائنات الدقيقة بالرغم من أن الأسطح الخارجية لها ملوثة بميكروبات عديدة ، ومقدار هذا التلوث انعكاس لعوامل عديدة منها :

- الميكروبات الموجودة في الوسط الذي أخذ منه الغذاء .
- حالة الغذاء الخام .
- طريقة التداول .
- مدة وظروف التخزين .

الخضروات والفواكه :

تتعرض الخضروات والفواكه للتلوث بالبكتيريا ، الفطريات والفيروسات ، ويتوقف مدى الفساد على مدى إصابة الأنسجة الداخلية بالكائنات الدقيقة . ويحدث التلوث أثناء نمو النبات بالحقل أو أثناء الحصاد اليدوي أو التداول ويُسّهِل حدوث جروح وتمزق للأنسجة غزو الميكروبات من السطح الخارجي إلى الأنسجة الداخلية . يتراوح الرقم الهيدروجيني للخضر ٥–٧ ، لذلك فهي أكثر ملائمة للإصابة بالبكتيريا عن الفواكه ، أما الفواكه وهي ذات حموضة أعلى من الخضر ويتراوح رقمها الهيدروجيني ٢,٣ بالحمضيات إلى ٥ في الموز فإنها تكون أكثر تعرضاً للإصابة بالفطريات .

اللحوم :

تتعرض الأنسجة الداخلية للحوم الطازجة للتلوث من السطوح الخارجية وذلك عند تقطيع اللحوم بالسكين ومن الوسط المحيط وأثناء النقل والتداول كما يحدث التلوث أثناء نزع الأحشاء الداخلية والأمعاء الغنية بالكائنات الدقيقة ، ويناسب تركيب اللحوم نمو البكتيريا ومنها *Pseudomonas* sp. , *Staphylococcus* sp. And *Enterococcus* sp. . وتشجع درجات الحرارة المنخفضة نمو البكتيريا المحبة للبرودة . كما تتلوث أنسجة الدواجن الداخلية من السطح الخارجي أثناء الذبح ، نزع الريش وإزالة الأحشاء وتعتبر السيدومونات أكثر البكتيريا تواجد على جلد الدواجن الطازجة .

الأسماك والأغذية البحرية :

الطبقة اللزجة الخارجية للأحياء البحرية غنية بالكائنات الدقيقة الموجودة بالوسط المائي الذي تعيش فيه ، حيث تنتقل أثناء التنظيف ونزع الأحشاء الداخلية ، وتزداد حدة التلوث إذا كانت المياه التي تعيش فيها تلك الأحياء ملوثة بمخلفات المجاري وبذلك فهي تكون وسيلة لنقل الميكروبات الممرضة كالبكتيريا التي تسبب الأضطربات المعوية والفيروسات التي تسبب التي تسبب الالتهاب الكبدي الوبائي وشلل الأطفال .

البيض :

المحتويات الداخلية للبيض السليم الطازج خالية من الميكروبات وتدخل الميكروبات كالبكتيريا والفطر إلى داخل البيضة من خلال شروخ القشرة التي تحدث أثناء ، النقل والتخزين كما تدخل من الثقوب الموجودة بالقشرة الكلسية التي تتفتح بسبب بلل البيض أو غسيله .

حفظ الأغذية food preservation :

تهدف عملية حفظ الأغذية منع النمو الميكروبي بها وإيقاف حدوث التغيرات غير المرغوبة فيها لتصبح أقرب ما يمكن من حالتها الطبيعية ، وبالتالي تتوفر طول العام كما يمكن نقلها إلى مسافات بعيدة عن مناطق الإنتاج .وتعتمد طرق الحفظ على واحد أو أكثر من الأسس التالية :

١. إبعاد أو منع التلوث .
٢. تثبيط النمو للكائنات الدقيقة .
٣. قتل الكائنات الدقيقة .

ويحدد طريقة الحفظ المناسبة نوع الغذاء ، الظروف الموجود عليها . ويفضل استخدام أكثر من طريقة للحفظ حيث أنه نادر ما توجد طريقة واحدة تكون مناسبة وكافية من جميع الوجوه .ويجب الأخذ في الاعتبار أن طرق الحفظ ليست بديلاً عن النظافة فلابد من مراعاة ظروف التعقيم في الإنتاج ، الجمع والتداول وتجنب التلوث قدر الإمكان .وفيما يلي شرح مبسط **لبعض طرق الحفظ** :

١. **إبعاد أو منع تلوث الغذاء بالكائنات الدقيقة أثناء التداول والتصنيع :** تتعرض الأغذية منذ إنتاجها من مصادرها الطبيعية حتى تناولها طازجة أو إعدادها لعملية التصنيع لمجموعة من عمليات التداول تؤدي إلى زيادة التلوث ولذلك فإن المحافظة على الغلاف أو القشرة للغذاء سليمة والتداول السليم وإتباع الظروف الصحية عند الغسيل ، التقطيع ، الإعداد للتصنيع وعمليات اللف والتعبئة الجيدة يزيد ن فترة حفظ المنتجات الغذائية.
٢. **الحرارة المنخفضة low temperature :** والأساس في هذه الطريقة هو إبطاء النشاط التمثيلي للكائنات الدقيقة نتيجة خفض درجات الحرارة إلى الصفر المئوي أو أقل من ذلك وتتميز هذه الطريقة بحفظ شكل وتركيب الغذاء بدرجة أكبر من أيّ طريقة أخرى . وطريقة الحفظ هذه مؤقتة ، فالحرارة المنخفضة تقلل من نشاط الإنزيمات ومن نمو ونشاط الكائنات الدقيقة ولكنها لا تقتلها ، ويقل النشاط كلما زاد انخفاض درجة الحرارة إلى أن يتوقف تقريباً عند درجة الصفر المئوي ، وتستطيع الكائنات الدقيقة المحبة للبرودة أن تستمر في النمو ومن أمثلة هذا النوع والتي قد تسبب فساد للأغذية من الفطريات *Cladosporium* sp. , *Monila* sp. , *Penicillium* sp. and *Sporotrichum* sp. ، ومن الخمائر الجنس *Torulpsis* sp. ، ومن أمثلة البكتيريا *Archomobacter* sp. , *Flavobacterium* sp. , *Micrococcus* sp. and *Pseudomonas* sp. . وانتشرت طريقة الحفظ بالحرارة المنخفضة في السنوات الأخيرة نتيجة لتقدم

تكنولوجيا التبريد حيث يمكن حفظ بعض الأغذية بالتبريد عند درجة قريبة من الصفر المئوي ٣–٥°م ومدة الحفظ بهذه الطريقة محدودة إلاّ أنها لا تؤثر على تركيب الطعام وطعمه . كما تستخدم طريقة التجميد freezing عند درجة حرارة أقل من الصفر المئوي باستخدام المجمدات وهذه الطريقة تستخدم بنجاح في حفظ كثير من الأغذية ، ومن الملاحظ أن الأغذية المجمدة بعد تذويبها تفسد بسرعة أكبر من الأغذية الطازجة ، وتقليل التلوث الميكروبي قبل التجميد أمر ضروري حيث تظل بعض الكائنات الدقيقة حية مثل *Salmonella* sp. .

٣. **الحرارة المرتفعة high temperature** : تؤدي الحرارة المرتفعة إلى قتل الميكروبات وهي بذلك تعتبر من الطرق الآمنة في حفظ الأغذية ، وتتوقف المعاملة الحرارية الناجحة على نوع الغذاء ، تركيبه ، ظروف الوسط من لزوجة وحموضة ، مقاومة الميكروبات للحرارة خاصة الجراثيم والزمن اللازم للقضاء على الميكروب ، سرعة نفاذية الحرارة للغذاء وحجم وعاء التعليب. **ومن المعاملات الحرارية المستخدمة في حفظ الأغذية :**

١. **البسترة pasteurization :** يستخدم في هذه المعاملة درجة حرارة أقل من ١٠٠°م لمدة تكفي لقتل الخلايا الخضرية دون الجراثيم وفي نفس الوقت لا تؤثر على القيمة الغذائية للمادة ، لذلك فإنه غالباً ما تحفظ الأغذية بعد بسترتها على درجة حرارة منخفضة . وتستخدم البسترة في الأغذية التي تقل قيمتها الغذائية بالغليان مثل اللبن ، منتجات الألبان ، عصير الفاكهة والأغذية المتخمرة .

٢. **الغليان boiling :** تستخدم في هذه المعاملة درجة حرارة ١٠٠°م وفي حالة الأغذية التي تتحمل الغليان مثل الأغذية الحامضية كعصير الطماطم والمربيات ، ولا تقضي هذه الطريقة على الجراثيم لذلك يمكن إطالة مدة الحفظ بتبريد الأغذية بعد الغليان .

٣. **التعليب canning :** وهو حفظ الأغذية في أوعية محكمة القفل بعد المعاملة الحرارية على درجة حرارة أعلى من ١٠٠°م ويستخدم لذلك معقمات البخار تحت ضغط وتعتمد المعاملة الحرارية للغذاء من زمن ودرجة حرارة على نوع الميكروب وكثافته ومدى تحمل الغذاء للحرارة ونوعه فمثلاً يُؤثر الرقم الهيدروجيني على المعاملة الحرارية حيث يقضي الرقم الهيدروجيني المنخفض على الميكروبات فعند تعليب عصير الطماطم وهو غذاء حامضي لا يحتاج التعقيم لأكثر من درجة الغليان لدقائق محدودة ، بينما يستخدم التعقيم بالبخار تحت ضغط لمدة طويلة للحم المعلب مثلاً .

٤. **التجفيف dehydration :** ويعتبر من أقدم الطرق والأكثر شيوعاً ، وهو يقلل من نسبة الماء بالمادة الغذائية فتصبح غير صالحة لنمو الميكروبات فيقل أو يتوقف نشاطها دون أن تموت ويشترط قبل البدء في عملية التجفيف خلو الأغذية من الميكروبات ، وبعد التجفيف تحفظ في مكان جاف . وتتم عملية التجفيف وإزالة الرطوبة من الأغذية بعدة طرق منها التعريض للهواء والشمس open-air drying أو باستخدام أجهزة تتحكم في درجات الحرارة والرطوبة النسبية وسرعة الهواء ، ومنها :

- استخدام تيار من الهواء الساخن يمرر خلال المادة الغذائية .
- تمرير الغذاء على أسطوانات ساخنة .
- رش المادة الغذائية السائلة في أوعية ساخنة مفرغة من الهواء .

ويتميز التجفيف بأن مدة الحفظ به طويلة ويقلل من حجم ووزن الغذاء فتسهل عملية التخزين والنقل ، كما أنه أقل تكلفة من طرق الحفظ الأخرى . وتعد المحاليل المركزة صورة من صور الحفظ بالتجفيف حيث أن كمية الماء الحر الموجود بالغذاء يصبح في صورة غير ميسرة للميكروبات نتيجة التركيز العالي للمواد الذائبة كالسكر أو الملح ، ويؤدي الضغط الأسموزي للمحلول إلى وقف نشاط الكائنات الدقيقة وربما موتها بسبب بلزمة الخلايا . ويستخدم المحلول السكري بنسبة ٧٠٪ والمحلول الملحي حوالي ١٥٪ ، والأغذية التي يستخدم في حفظها المحلول السكري المربى ، الفواكه اللبن المكثف المحلى والعصيرات المركزة ، أما الأغذية التي يستخدم في حفظها المحلول الملحي الأسماك والمخللات .

٥. **التجفيد lyophilization :** تجمع هذه الطريقة بين التجميد والتجفيف حيث تجمد المادة تجميد سريع ثم تجفف بالتسامي تحت تفريغ وتصل نسبة الرطوبة في المنتج النهائي أقل من ٠,٥٪ ، والمادة المعاملة بهذه الطريقة يمكن حفظها مدة طويلة جداً تصل لعدة سنوات كما في حفظ المزارع البكتيرية ، ولابد من التأكد من خلو الماد الغذائية من الميكروبات المرضية قبل البدء في هذه العملية .

٦. **المواد الحافظة preservatives :** تعمل هذه المواد في الأغذية على منع أو تأخير نمو الميكروبات بها وذلك بإضافتها للغذاء أو يمكن أن تتكون أثناء إعداده نتيجة نشاط الميكروبات كما يحدث في عملية التخمر مثل الألبان حيث يتكون أثناء التخمر أحماض اللاكتيك والبروبونيك والخليك التي تساعد على حفظ الغذاء . وهناك عديد من المواد الحافظة التي تضاف للغذاء ويشترط فيها أن تكون غير ضارة بصحة الإنسان مثل حمض السوربك والبروبونيك لتثبط نمو الفطريات بالخبز والبنزويك للعصيرات المركزة والمربيات ، كما يستخدم كلوريد الصوديوم في المخللات والأغذية المملحة ، النترات والنتريت لحفظ اللحوم

والمحافظة على لونها الأحمر . ويعتبر **تدخين الأغذية** smoking كالأسماك واللحوم من طرق الحفظ بالمواد الحافظة لتصاعد أبخرة كالفينولات والكيتونات والفورمالدهيد وأحماض عضوية كالخليك والفورميك والبروبونيك من دخان الخشب أو الفحم المستعمل في التدخين وهذه المواد مثبطة للميكروبات وتنفذ بأنسجة الأغذية أثناء التدخين وتساعد على الحفظ، ويلزم لاستمرار حفظها تخزينها في مكان جاف . كما تستخدم التوابل في الغذاء لإكسابه الطعم والنكهة وهي تحتوي على بعض الزيوت المضادة لنشاط الكائنات الدقيقة antimicrobial activity التي قد تساعد في حفظ الأغذية ، ويختلف تأثيرها باختلاف نوع التوابل وكميتها ونوع الكائن الدقيق ، وقد وجد أن زيوت التوابل أشد تأثيراً على الكائن الدقيق من التوابل نفسها . وتفقد التوابل تأثيرها المثبط نتيجة تعريضها للهواء وفقدها لمركباتها الطيارة . تم مؤخراً استخدام مضادات الحيوية مثل الكلوروتتراسيكلين والأوكسي تتراسيكلين في حفظ الأغذية منخفضة الحموضة مثل اللحوم والأسماك والدواجن ، ولهذه الطريقة تأثير ضار على صحة الإنسان وعلى تكوين طفرات للكائنات الدقيقة المقاومة لتأثير المضاد .

٧. **الإشعاع radiation :** يسمى تعقيم الأغذية بالإشعاع التعقيم البارد حيث لا ترتفع درجة حرارة الغذاء المعامل لأكثر من عدة درجات . وتستخدم لذلك الأشعة المؤينة مثل أشعة γ التي تعتبر قاتلة للكائنات الدقيقة . ومن أكثر الكائنات الدقيقة مقاومة للإشعاع ويهم صانعي الأغذية التخلص منها *Clostridium botulinum* . وتعتمد معاملة الكائنات الدقيقة بالأشعة المؤينة على جرعة الإشعاع القاتلة ونوع الكائن الدقيق حيث تختلف في مقاومتها للإشعاع فأقلها مقاومة البكتيريا السالبة لجرام ، في حين تزيد مقاومة البكتيريا غير المتجرثمة الموجبة لجرام ثم الفطريات والخمائر تليها البكتيريا المتجرثمة وأخيراً الفيروسات والإنزيمات ويلزم لقتلها جرعات عالية من الإشعاع.

فساد الأغذية food spoilage :

يحدث الفساد البيولوجي بالغذاء بسبب نشاط إنزيمات الغذاء أو الكائنات الدقيقة أو الاثنين معاً ويعتبر الفساد الميكروبي أهمها ، وتقسم الأغذية بالنسبة لقابليتها للفساد إلى :

١. أغذية غير قابلة للفساد مثل الحبوب ، السكر ، الدقيق وهي لا تفسد إلاّ في حال تعرضها للرطوبة .

٢. أغذية متوسطة القابلية للفساد مثل البطاطا ، البطاطس ، اللفت وهي تبقى سليمة مدة طويلة إذا خزنت بعناية.

٣. أغذية قابلة للفساد وتشمل معظم الأغذية من خضروات ، فاكهة ، لحوم ، دواجن ، أسماك ، ألبان وبيض وهي سريعة الفساد ما لم تحفظ بطريقة حفظ مناسبة . وتعتبر أغلب المواد الغذائية بيئة مناسبة لنمو الكائنات الدقيقة من بكتيريا ، فطريات وخمائر ، حيث تحدث تغيرات في مظهر ، طعم ، لون ، تركيب وخواص الغذاء ومنها أنواع ممرضة للإنسان والحيوان . وتتوقف طبيعة وسرعة فساد الغذاء على مجموعة من العوامل منها طبيعة الغذاء وصفاته الطبيعية والكيميائية ، نوع وعدد الكائنات الدقيقة الموجودة به ، طريقة الحفظ المستخدمة وظروف التخزين .ويمكن تلخيص عمليات التحلل التي تحدث بالغذاء نتيجة النشاط الميكروبي في التفاعلات التالية :

- **التعفن putrefaction :**

Protein + protein lyses microbe ⇨amino acids + amines + NH_3+ sulfate + H_2S + CO_2

- **التخمر fermentation :**

Carbohydrate + carbohydrate lyses microbe ⇨organic acids + alcohol + H_2+CO_2

- **تزنخ rancidity :**

Lipids + lipids lyses microbe ⇨fatty acids + glycerol

وتنتج التغيرات في المادة الغذائية نتيجة ما تفرزه الكائنات الدقيقة أثناء نشاطها التمثيلي من مواد مختلفة مثل الصبغات والمواد اللزجة وغيرها مما يؤدي إلى تحلل المادة الغذائية .

التسمم الغذائي food poisoning :

التسمم الغذائي مرض فجائي ينتج من تناول غذاء يحتوي على مواد كيميائية سامة أو مبيدات كيميائية أو سموم ميكروبية ، ويتميز التسمم الميكروبي بأنه يظهر فجأة بين مجموعة من الأفراد مع حدوث اضطرابات في الجهاز الهضمي . ولا يقتصر التسمم الميكروبي على البكتيريا بل يمكن أن يحدث من فطريات ، طحالب أو بروتوزوا . والسموم التي يكونها الكائن الدقيق عبارة عن نواتج ثانوية للتمثيل الغذائي وأغلبها عبارة عن بروتين أو عديد الببتيد . **ومن التسمم البكتيري :**

١. التسمم البوتشوليني Botulism :

يتسبب هذا التسمم عن توكسين خارجي تفرزه بكتيريا *Clostridium botulinum* ، وهي بكتيريا عصوية لا هوائية موجبة لصبغة جرام متجرثمة بجرثومة طرفية ، تنمو في الأغذية المعلبة غير محكمة التعقيم خاصة الأغذية منخفضة الحموضة والأغذية المنزلية . تظهر الأعراض بعد ١٢–٣٦ساعة من تناول الغذاء المحتوي على التوكسين ، وتتمثل الأعراض في الصداع ، الدوار ، صعوبة في البلع ، النطق ، التنفس والنظر ثم يحدث شلل بالجهاز التنفسي والعصبي . ويعد هذا التوكسين من أشد التوكسينات المعروفة تأثيراً ولذلك فإن نسبة الوفيات عالية تزيد عن ٦٥٪ ويحدث الموت بعد ٣–٨ أيام من ظهور الأعراض . والميكروب شديد المقاومة للحرارة وتتحمل الجراثيم درجة ١٢٠°م لعدة دقائق ، ولكن يتأثر التوكسين بالحرارة .

٢. التسمم العنقودي Staphylococcal food-poisoning :

يتسبب هذا التسمم عن توكسين خارجي معوي enterotoxin تفرزه سلالات من بكتيريا *Staphylococcus aureus* ، وهي بكتيريا كروية عنقودية غير متجرثمة هوائية اختيارية موجبة لصبغة جرام وتفرز هذه البكتيريا صبغات صفراء اللون ، وتنمو في بيئة تحتوي ١٠٪ كلوريد صوديوم ويتحمل ملوحة حتى١٥٪ . وهذا التسمم شائع الحدوث في الأفراح والحفلات الجماعية ، وأكثر الأغذية تعرضاً لهذا النوع من التسمم الأغذية المنخفضة الحموضة خاصة الفطائر المحشوة والحلويات ومنتجات الألبان . تظهر الأعراض حسب حساسية الفرد المصاب بعد ١–٦ساعات من تناول الغذاء المحتوي على التوكسين وتتمثل في صورة اضطرابات معوية مصحوبة بالمغص والقيء والإسهال ، ولا تحدث وفيات من هذا النوع من التسمم ويتم الشفاء خلال ١–٣يوم . وحيث أن البكتيريا غير متجرثمة فإنها تقتل بسهولة عند درجة حرارة أقل من ١٠٠°م ، إلاّ أن التوكسين شديد المقاومة للحرارة ولا يتلف بالغليان .

٣. التسمم بالسالمونيلا Salmonella food-poisoning :

ويتسبب عن بكتيريا *Salmonella typhimurium* , *S.enteriditis* ، وهي بكتيريا عصوية قصيرة غير متجرثمة هوائية اختيارية سالبة لصبغة جرام ، ولا تحلل هذه البكتيريا سكر اللاكتوز وبعض أنواعها ممرضة للدواجن والحيوانات .تظهر الأعراض بعد ٧–٣٠ ساعة من الإصابة ، وتميز طول فترة الحضانة التسمم بالسالمونيلا عن التسمم العنقودي كما انه أقل انتشاراً منه ، وتظهر الأعراض في صورة اضطرابات معوية مع ارتفاع بسيط في الحرارة ، ويستمر المرض لعدة أيام ونسبة الوفيات أقل من ١٪ . تنتقل البكتيريا إلى الغذاء بواسطة الذباب وأكثر الأغذية تعرضاً المنخفضة الحموضة خاصة اللحوم ، الدواجن ، الأسماك وألبان الحيوانات المصابة .

إنتاج الكحول الإيثيلي
Production of Ethyl alcohol

تستخدم الكحولات كمحاليل مذيبة لكثير من المركبات العضوية ، كما تدخل في تركيب بعض المواد الكيميائية ، وتدخل في تركيب بعض محاليل الغرغرة وأدوية الكحة ومعجون الحلاقة والروائح العطرية والمنظفات وصبغات الشعر ، وحديثاً استخدمت الكحولات كبديل للبنزين في تشغيل محركات السيارة . وتنتج الكحولات إما بتحلل البترول أو بعملية تخمر السكريات بواسطة الخميرة وتعتبر أقل في التكاليف من الطريقة الأولى .

العوامل الواجب ضبطها عند إنتاج الكحول الإيثيلي :

السلالة المستخدمة : تتم عملية التخمر بواسطة خميرة *Saccharomyces cervisiae* ويجب أن تتوفر في سلالة الخميرة إضافة إلى الصفات السابقة ، ارتفاع كفاءتها في إنتاج الكحول وثاني أكسيد الكربون ، وقدرتها على تحمل تركيز عالي من السكر والكحول .

إعداد البادئ : يجري تحضيره من السلالة المنتخبة النقية المحفوظة ، وتعمل عدة تنشيطات متتالية من هذه المزرعة في محلول التخمير المعقم على درجة حرارة ٢٥–٣٠°م حتى نحصل على خلايا تكفي لتلقيح ٤ليتر من الوسط الغذائي ، ثم تنقل خطوات التلقيح من المعمل إلى المصنع وأول مخمر يلقح في المصنع يسع من ١٠–٤٠جالون ، ثم تتوالى خطوات الصناعة حتى يلقح المخمر الأساسي بالكمية اللازمة .

المواد الخام : يمكن استخدام العديد من المواد الخام المحتوية على سكريات قابلة للتخمر بواسطة الخميرة ويمكن تقسيمها إلى ثلاث أقسام :

- **المواد السكرية** مثل المولاس ، دبس السكر، سكر القصب ومولاس البنجر وعصير الفاكهة .
- **المواد السليلوزية** مثل الخشب ومخلفات صناعة الورق من الخشب .
- **المواد النشوية** مثل الحبوب والبطاطس .

وتختلف من بلد لآخر تبعاً لتوفرها وانخفاض سعرها وملاءمتها للإنتاج فمثلاً في المانيا تستخدم البطاطس بينما يفضل في فرنسا استخدام مولاس البنجر ، أما في السويد فتستخدم مخلفات صناعة الورق ، وفي ايطاليا يستخدم العنب ومولاس البنجر .

تركيز السكر : يتراوح تركيز السكر المستخدم في هذه الصناعة بين ١٠–١٨٪ والتركيز المعتاد هو ١٢٪ ويراعى عدم ارتفاع تركيز السكر أكثر من اللازم كي لا يكون له تأثير عكسي على الكفاءة الإنتاجية لتأثيره المثبط على خلايا الخميرة ، إضافة إلى أنه يؤدي إلى زيادة المدة اللازمة للتخمير ، كما أن استخدام تركيز أقل من اللازم يُعد غير اقتصادي ككفاءة إنتاجية .

مركبات غذائية أخرى : يحتوي المولاس على معظم العناصر الغذائية اللازمة للتخمر إلاّ أنه يضاف أحياناً أملاح أمونيوم في صورة كبريتات أو فوسفات أمونيوم إلى محلول التخمر كمصدر للنيتروجين والفسفور .

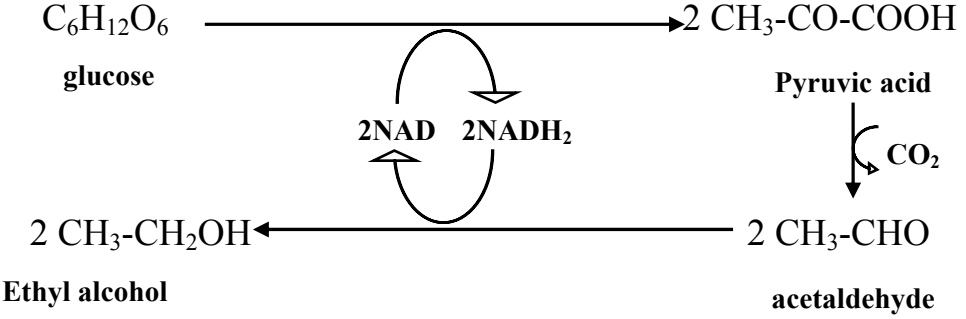
الرقم الهيدروجيني : تعتمد هذه الصناعة بدرجة كبيرة على الرقم الهيدروجيني لمحلول التخمر ، حيث أن درجة الحموضة الملائمة للتخمر بين ٤–٤,٥ وهي غير ملائمة لنمو معظم أنواع البكتيريا مما يقلل من احتمال حدوث التلوث البكتيري . ولابد من ملاحظة عدم زيادة الحموضة عن ذلك لتجنب تغير مسار التخمر لإنتاج نواتج أخرى .

التهوية : تحتاج المراحل الأولى في الإنتاج إلى تهوية كافية لإنتاج الخلايا ، وهنا يجب تعقيم الهواء وتمريره بالمعدل الأمثل للنمو ، أما في المراحل النهائية التي يتم فيها إنتاج الكحول فتتم في ظروف لا هوائية .

درجة الحرارة : تقع درجة الحرارة الملائمة بين ٢٥–٢٧°م ، وللمحافظة على ثبات درجة الحرارة يمرر الماء البارد من خلال مواسير محيطة بجدار المخمر ، ويمكن استخدام طرق أخرى حسب نوع وتصميم المخمر . ويؤدي ارتفاع درجة الحرارة إلى تطاير الكحول ، كما قد يؤدي إلى حدوث تلوث بالبكتيريا .

عملية التخمر :

بعد تجهيز المواد الخام وضبط كل الظروف الملائمة لإتمام عملية التخمر ، يلقح المخمر بالبادئ بالكمية الملائمة لحجم المخمر ، وتستنفذ الخلايا الأكسجين الذائب في سائل التخمر ثم تتجه إلى الظروف اللاهوائية ، وتنشط الخلايا نحو تكوين الكحول الإيثيلي . وتتم عملية التخمر عادة في حوالي ٥٠ ساعة أو أقل تبعاً للطريقة المستخدمة ودرجة الحرارة وتركيز السكر . وتتم العملية كما في المعادلات التالية :



تقطير الكحول :

قبل البدء في عملية التقطير تفصل الخميرة بجهاز الطرد المركزي حيث يمكن استخدامها في تغذية الحيوانات ، ثم يتم فصل الكحول بالتقطير ويصل تركيز الكحول في أول مرحلة التقطير ٦٠–٩٠٪ ، ثم تجرى عملية تركيز حتى يصل ٩٥٪ بإمراره على وحدات تكرير وتكثيف . وقد يجرى للكحول الناتج عمليات تجفيف إضافية dehydration للحصول على الكحول المطلق .

يتم جمع ثاني أكسيد الكربون المتصاعد خلال عملية التخمر ويعبأ في اسطوانات حيث يستغل اقتصادياً في إنتاج الثلج الجاف .

إنتاج الخل
Production of Vinegar

ينتج الخل بواسطة بكتيريا حمض الخليك *Acetobacter aceti* ، وتتم عملية التخمر لإنتاج الخل مرحلتين :

المرحلة الأولى :

ويتم فيها تخمر السكر إلى كحول إيثيلي بواسطة خميرة *Saccharomyces cerevisiae* تحت الظروف اللاهوائية ، كما في المعادلة:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2CO_2 + 2CH_3\text{-}CH_2OH$$

المرحلة الثانية :

وفي هذه المرحلة يتم أكسدة الكحول الإيثيلي الناتج ليعطي حمض الخليك ، وتتم تحت الظروف الهوائية بواسطة بكتيريا *Acetobacter aceti* ، والتي تنمو على سطح السائل وتنتج غشاء ثقيل يطفو على السطح ويعرف باسم "أم الخل" mother of vinegar . ويتم تكوين الحمض على خطوتين ، الخطوة الأولى تتمثل في أكسدة الكحول إلى اسيتالدهيد ، وفي الخطوة الثانية يتم أكسدة الاسيتالدهيد إلى حمض كما في المعادلات التالية :

$$CH_3\text{-}CH_2OH + \tfrac{1}{2}O_2 \longrightarrow CH_3\text{-}CHO + H_2O$$

$$CH_3\text{-}CHO + \tfrac{1}{2}O_2 \longrightarrow CH_3\text{-}COOH$$

العوامل الواجب ضبطها عند إنتاج حمض الخليك :

إضافة إلى العوامل الضرورية لإنتاج الكحول باعتبار أنها المرحلة الأولى في عملية إنتاج الخل ، أما المرحلة الثانية فيلزم لها الآتي :

تركيز الكحول : يضبط تركيز الكحول في بداية المرحلة الثانية للتخمير بين ١٠-١٣٪ ، ومن الملاحظ أنه عند استخدام تركيز أعلى من ذلك فإن الكحول لا يتحول كله إلى حمض خليك ، كما أن استخدام تركيز أقل من الكحول يؤدي إلى انخفاض إنتاج الخل .

إضافة الحمض : بعد إتمام عملية التخمر الكحولي وتحويل السكريات إلى كحول يضاف خل بنسبة ١٠٪ من الحجم بهدف جعل الظروف غير ملائمة للبكتيريا غير المرغوبة .

التهوية : والتهوية هنا ضرورية حيث أن عملية تحويل الكحول إلى حمض الخليك عبارة عن أكسدة يقوم فيها الأكسجين كمستقبل نهائي للهيدروجين ، لذلك يتوقف نجاح هذه المرحلة على كمية الأكسجين المتوفرة في وسط الإنتاج .

درجة الحرارة : تتوقف درجة الحرارة على نوع السلالة المستخدمة وكذلك الطريقة المستخدمة في الإنتاج . واستخدام درجة حرارة مرتفعة عن ٣٠°م يؤدي إلى تبخر الكحول وحمض الخليك والمواد الطيارة المكونة لنكهة الخل .

طرق صناعة الخل:

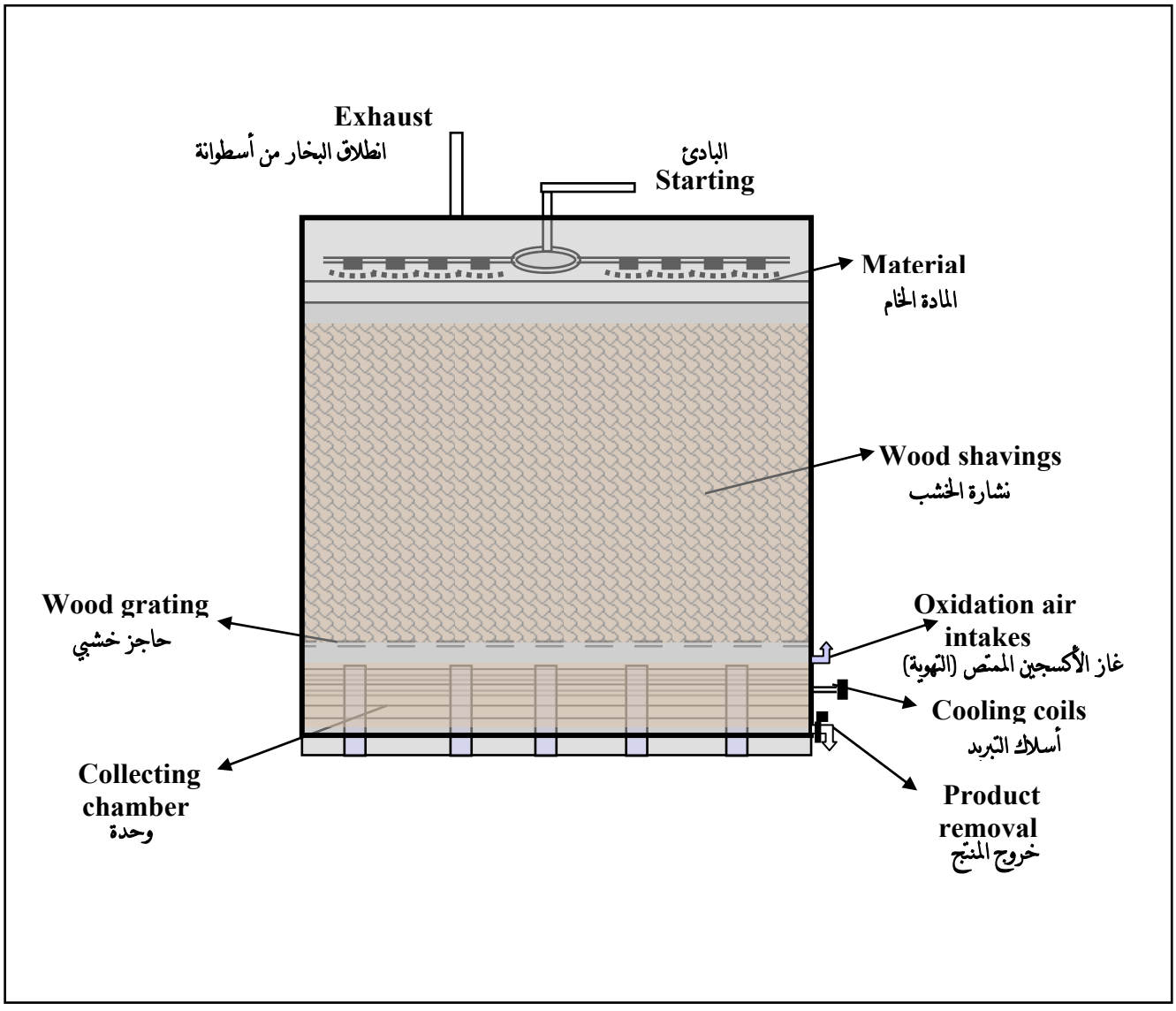
١. طريقة أورليان:

يصنع الخل من عصير الفواكهة مثل العنب والتفاح وفي شرق أسيا يصنع الخل أيضاً من الأرز . ويصنع الخل عادة في المنزل في أوعية توضع على جانبها وتملأ جزئياً بعصير الفاكهة المتخمر ، ثم يلقح العصير بأم الخل أو بخل طازج غير مبستر ، ويزود الوعاء بثقوب فوق سطح السائل للتهوية وتوفير الظروف الهوائية لإنتاج حمض الخليك ، وإذا زودت الأوعية بأجهزة لسحب الخل منها وإضافة عصير الفاكهة الكحولي إليها فإن العملية تصبح مستمرة تقريباً ، ويجب أن تكون عملية سحب الخل أو إضافة العصير الكحولي بطريقة تمنع هزّ الغشاء وسقوطه إلى القاع ، وإذا حدث ذلك فإنه لا بد أن ينمو الغشاء من جديد قبل أن تتم عملية التحول إلى حمض الخليك ، وتعرف هذه الطريقة بطريقة "أورليان" لصناعة الخل .

٢. الطريقة السريعة :

تستخدم هذه الطريقة في الصناعة وتشمل التهوية الزائدة أثناء العملية والتلامس الوثيق بين كميات صغيرة من المشروب الكحولي مع النمو اللزج لبكتيريا *Acetobacter aceti* ، وفي هذه الطريقة تملأ أوعية اسطوانية بنشارة الخشب المفككة عن بعضها أو بمادة مماثلة

تعطي سطحاً كبيراً ، ثم يسمح بدخول العصير الكحولي من أعلى الأوعية لينضح على نشارة الخشب التي سرعان ما تتغطى بالنمو اللزج بعد إضافة مزارع من بكتيريا *Acetobacter aceti* ، ويزود البرميل بفتحات في أسفله يدخل منها الهواء ، وأخرى في أعلاه ليخرج منها الهواء ، وبذلك تكون الظروف مهيئه للأكسدة السريعة للكحول إلى حمض الخليك .وقد يكون التفاعل سريع جداً مما يؤدي إلى ارتفاع درجة الحرارة والتسبب في موت البكتيريا ، ولذلك تؤخذ التدابير اللازمة لخفض درجة الحرارة مثل تزويد الأوعية بمواسير تبريد . **ويوضح شكل (٤)** تركيب جهاز إنتاج الخل .



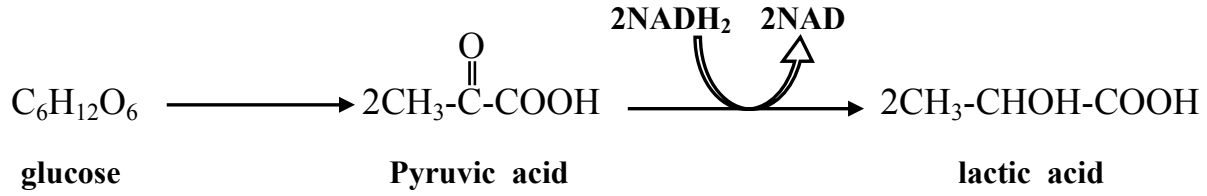
شكل (٤) : رسم تخطيطي يوضح تركيب المخمر المستخدم في إنتاج الخل .

إنتاج حمض اللاكتيك
Production of lactic acid

تنتج بعض أنواع البكتيريا والفطريات حمض اللاكتيك كناتج أساسي لعمليات التخمر ، ومن أهم أنواع البكتيريا : *Lactobacillus* sp. والجنس *Streptococcus* sp. ويطلق على هذه الأجناس اسم بكتيريا حامض اللاكتيك ، وهي تتنفس لا هوائياً أو تحتاج إلى إمداد ضعيف من الأكسجين ، كما تتميز بأن لها احتياجات خاصة للنمو ، شكل (٥) . وتتم عملية التخمر في مدة يوم إلى ٦ أيام.

وتنقسم بكتيريا حمض اللاكتيك تبعاً لطبيعة المنتج النهائي لعملية التخمر إلى :

- بكتيريا متشابهة التخمر Homo fermentative (Homo lactic fermentation) : وهي البكتيريا التي تنتج حمض اللاكتيك كمنتج أساسي من تخمر السكر ، وتشمل الأنواع التالية : *Lactobacillus delbrueckii* و *L. bulgaricus* و *L. casei* و *Streptococcus lactis* .
- بكتيريا متغايرة التخمر Hetero fermentative (Mixed acids fermentation) : وهي البكتيريا التي لها القدرة على تخمير السكر وإنتاج مركبات أخرى بالإضافة إلى حمض اللاكتيك مثل بعض الأحماض كالخليك ، الكحول الإيثيلي و CO_2 ، وبالتالي فإن إنتاج حامض اللاكتيك منخفض لعدم استهلاك المصدر الكربوني لتكوين الحامض فقط بل يستغل لتكوين مركبات كربونية أخرى ، ومن البكتيريا التابعة لهذه المجموعة : بعض أنواع جنس *Lactobacillus* sp. .



العوامل الواجب ضبطها عند إنتاج حمض اللاكتيك :

المصدر الكربوني : يستخدم في إنتاج حمض اللاكتيك عدد من الكربوهيدرات كمصدر للسكريات القابلة للتخمر ، ويراعى عند اختيار المادة الخام أن تكون متوفرة بكثرة ، وزهيدة الثمن ، وأن تكون قابلة للتعديل والتحويل إلى سكريات بسيطة مثل معاملة النشا بالاميليز لتحويله إلى سكريات أحادية .ومن المواد الخام المستخدمة كمصدر للسكريات المولاس ، الشرش whey مخلفات صناعة الورق والمواد النشوية مثل البطاطس والذرة .

الكائن الدقيق : يستخدم في هذه الصناعة أحد أنواع مجموعة homo fermentative ويحدد نوع المادة الخام المستخدمة في التخمر نوع البكتيريا المستخدمة لعملية التخمر ، فمثلا تستخدم السلالات *L. delbrueckii , L. casei , Streptococcus lactis* عند استخدام المولاس أو أيّ مادة خام تعطي الجلوكوز أو نواتج تحلل النشا ، وتستخدم *L. bulgaricus* عند تخمر الشرش whey والذي يحتوي على سكر اللاكتوز .

تركيز السكر : يتوقف تركيز السكر المُخمر على نوع السلالة المستخدمة ، ومدى كفاءتها في تخمير السكر ، والتركيز الملائم لها ، ونوع المادة الخام والطريقة المتبعة في الصناعة . ويتراوح التركيز المستخدم ٥–٢٠٪ .

درجة الحرارة : تتم عملية التخمر اللاكتيكي على درجة حرارة مرتفعة نسبياً ، وتتوقف درجة الحرارة على نوع البكتيريا المستخدمة . ودرجة الحرارة المثلى عند استخدام بكتيريا *L. bulgaricus* تتراوح بين ٤٥–٥٠°م ، وعند استخدام *L. casei* تكون الدرجة المثلى ٣٠°م .

التهوية : البكتيريا المستخدمة في صناعة حمض اللاكتيك إما لا هوائية أو تحتاج لكميات بسيطة من الأكسجين ، ولا يمثل التلوث الميكروبي في هذه الصناعة مشكلة لارتفاع درجة حرارة الحرارة وعدم توفر كمية كافية من الأكسجين.

الرقم الهيدروجيني : يفضل في هذه الصناعة الوسط الحامضي أو القريب من التعادل ، ويتوقف الرقم الهيدروجيني المناسب على البكتيريا المستخدمة ، وعلى المادة الخام المستخدمة . ويفضل الرقم الهيدروجيني بين ٥,٨–٦ ، فعند هذه الدرجة من الحموضة يكون معدل إنتاج حمض اللاكتيك خمسة أضعاف الإنتاج عند الرقم الهيدروجيني ٤,٥ .

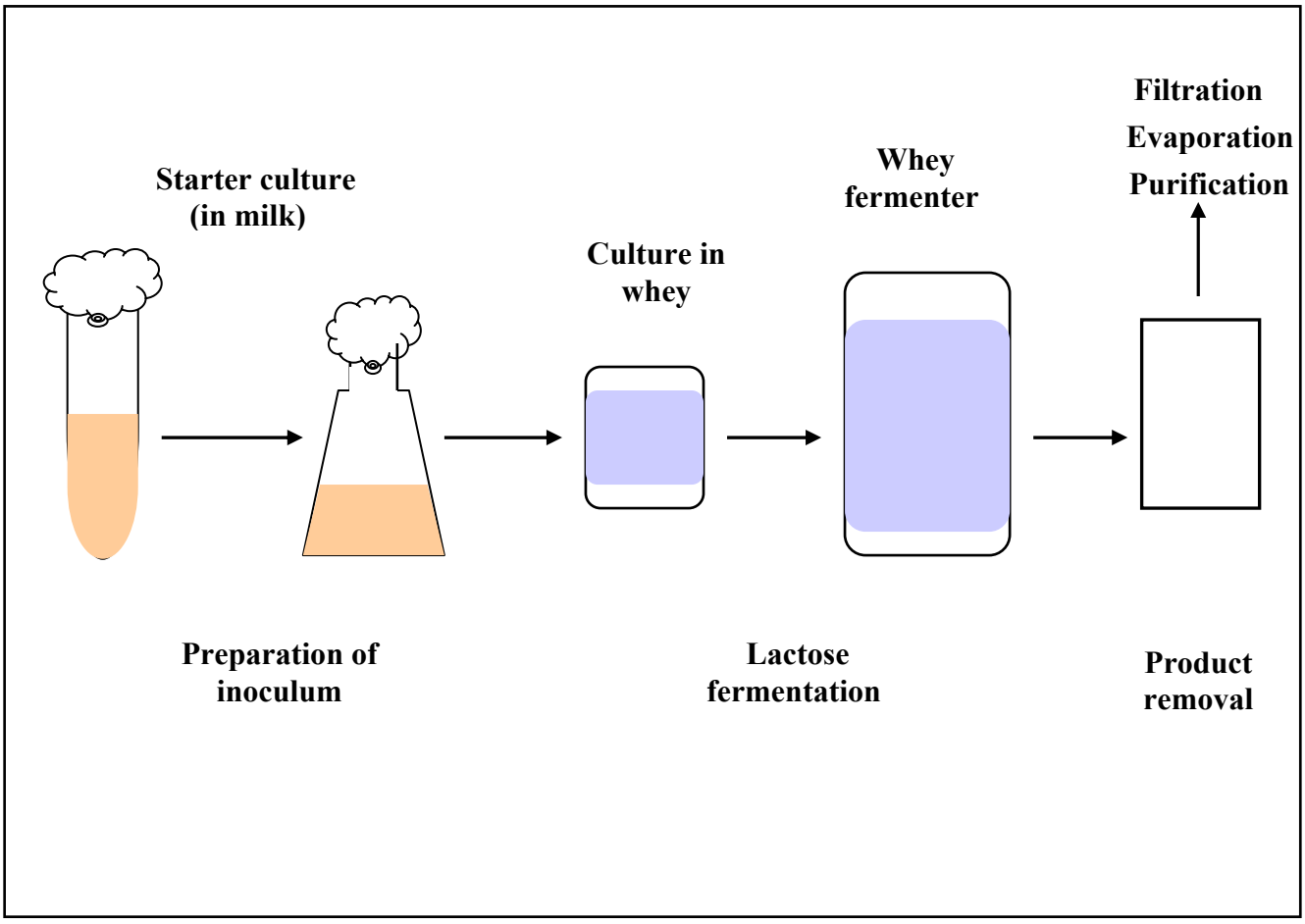
عوامل النمو اللازمة : تحتاج بعض السلالات إلى وجود الريبوفلافين في المخمر لنموها ، وسلالات أخرى إلى حمض الباانتوثينيك ، في حين يشجع حمض النيكوتينك سلالات أخرى على النمو وإنتاج الحمض .

إضافة مواد محسنة للإنتاج : إضافة بعض المواد إلى المولاس المستخدم في الصناعة تحسن من الإنتاج وتقلل الفترة اللازمة للتخمر ، من ضمن هذه المواد مستخلص الشعير المنبت ومنقوع الذرة ، وذلك لما تحويه هذه المواد من نيتروجين عضوي ومواد محفزة للنمو .

كفاءة الإنتاج : يحسب الإنتاج على أساس كمية السكر المستخدمة ويصل الإنتاج إلى ٨٥–٩٠٪ من السكر المخمر .

الاستخدامات الصناعية لحمض اللاكتيك :

يستعمل حامض اللاكتيك في الأغذية وفي صناعة الورنيش واللدائن والمنسوجات ، كما تستخدم مشتقاته في الأغراض الطبية مثل لاكتات الكالسيوم لعلاج نقص الكالسيوم ولاكتات الحديد لعلاج الأنيميا .

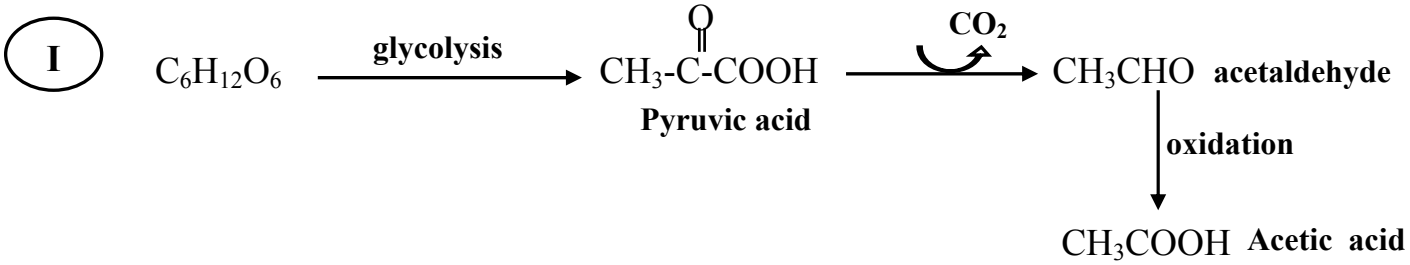


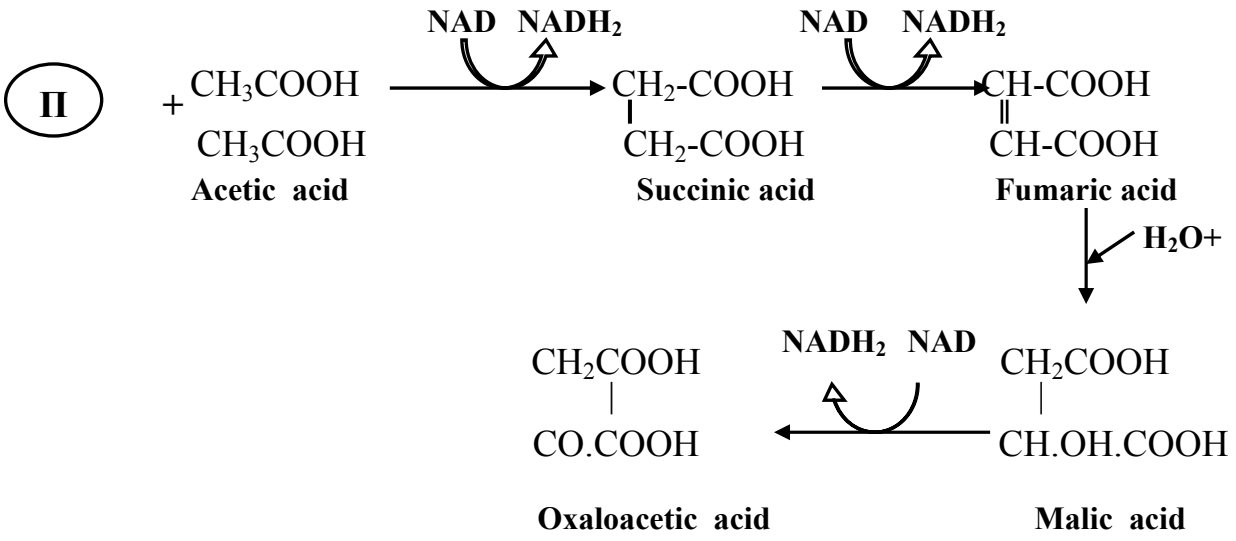
شكل (٥) : رسم تخطيطي يوضح خطوات تخمر حمض اللاكتيك .

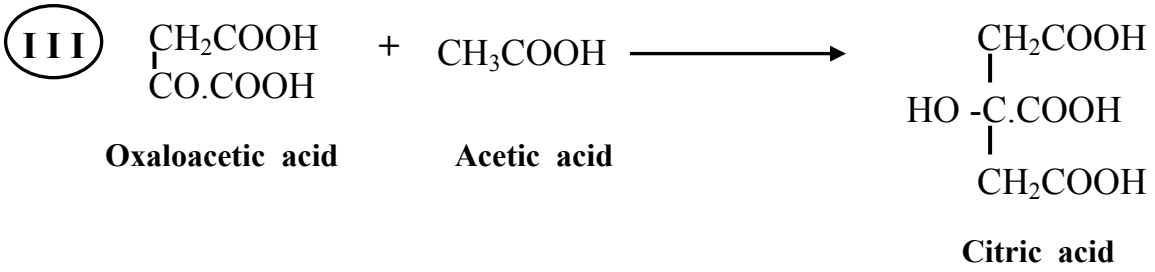
إنتاج حمض الستريك
Production of Citric acid

يعتبر حمض الستريك أحد أهم المنتجات التجارية المصنعة بواسطة الفطريات الطحلبية ، وينتج هذا الحمض بتخمر السكر بواسطة الفطريات الزقية مثل *Aspergillus* sp. , *Penicillium* sp. ويستخدم في الصناعة فطر *Aspergillus niger* الذي ينمى في وسط كربوهيدراتي وبرقم هيدروجيني أقل من ٢ ، ويتم اختيار السلالة على أساس ثباتها ، قدرتها على تكوين الجراثيم وإنتاجها العالي للحمض ، ويتكون حامض الستريك عند طور النمو الثابت . يعتبر إنتاج حمض الستريك بواسطة الكائنات الدقيقة أوسع من إنتاجه من الفواكه والتي كان ينتج منها قبل استخدام الكائنات الدقيقة ، وتم اكتشافه بواسطة العالم Fumer سنة ١٩٠٠م في وسط نمو الفطريات وأطلق عليه citromyces . وتعتبر هذه الصناعة من أهم الصناعات التي تعتمد على الفطر ويسمى الناتج **بحمض الستريك المتخمر** ، أما الناتج من الليمون أو غيرة من الحمضيات فيسمى **الحمض الطبيعي** .

يمكن للفطر أن يكون حمض الستريك بطريقتين **الأولى** عن طريق تجميع لجزيئات حمض الخليك وتكون نسبة الحمض المتكونة ٨٧٪ . أما **الطريقة الثانية** فيتكون الحمض عن طريق تكثيف جزيئات حمض البيروفيك مع CO_2 ثم الإتحاد مع جزئ حمض الخليك وتكون نسبة الحمض المتكونة ٢٢٪ . وسيتم توضيح **الطريقة الأولى** في المعادلات التالية :







العوامل الواجب ضبطها عند إنتاج حمض الستريك:

المصدر الكربوني : تخمر الفطريات أنواع عديدة من الكربوهيدرات والسكريات ، وأهمها من ناحية التصنيع السكروز والجلوكوز بنسبة ١٥٪ .

الفطر : ينتج حمض الستريك عدد كبير من الفطريات إلاّ أن فطر *Aspergillus niger* هو أهمها في الصناعة .

الأملاح المعدنية : تحتاج الفطريات لبعض العناصر المعدنية كالنيتروجين ، الفوسفور ، البوتاسيوم والماغنسيوم ، ولذلك تضاف هذه العناصر بصورة أملاح معدنية بنسبة ٣٪ في الوسط الصناعي كما أن ارتفاعها عن النسبة المحددة يقلل من تكوين الحمض ، كما أن زيادة النيتروجين يزيد النمو ويخفض إنتاج الحمض .

الرقم الهيدروجيني : ينتج الفطر حمض الستريك في الوسط الحامضي ، ويضبط الوسط بإضافة حمض HCl ، ويبدأ الرقم الهيدروجيني عادة بـ ٣ أو أقل ويزيد هذا التركيز في الانخفاض مع تقدم عملية التخمر .

درجة الحرارة : في المراحل الأولى للنمو ترتفع درجة الحرارة إلى ٣٤°م ، ثم تنخفض إلى ٣٠°م .

التهوية : الفطريات هوائية إجبارياً ، وبذلك يتطلب إنتاج حمض الستريك توفر درجة من التهوية إذا زادت أو انخفضت ينخفض الإنتاج .

طريقة التصنيع :

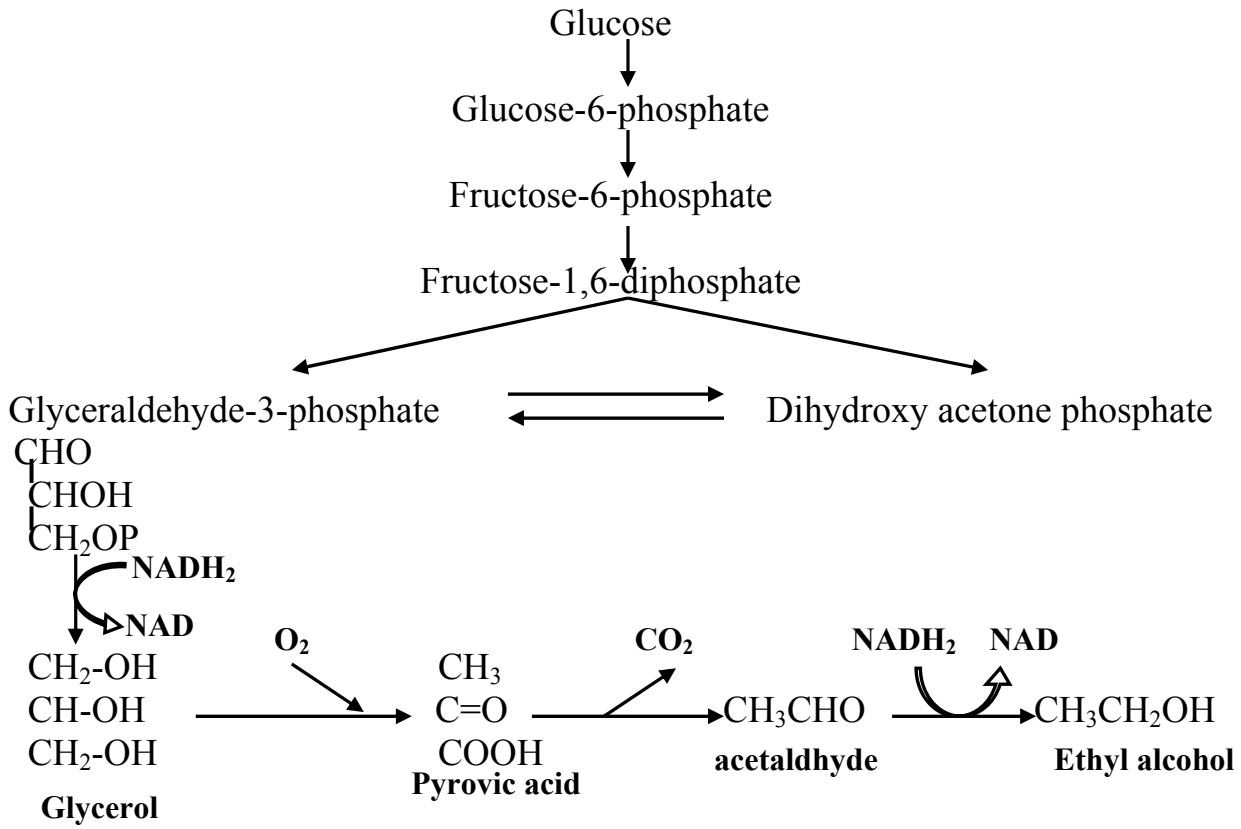
ويستخدم في عملية التخمر أوعية قد تكون ضحلة وتسمى الطريقة التي تستخدم هذه الأوعية **بالطريقة السطحية** ، أو عميقة وتسمى **بالطريقة العميقة أو المغمورة** . ويؤثر عمق السائل المتخمر في عملية التخمر حيث يزداد التخمر وإنتاج الحمض كلما قل عمق السائل في أوعية التخمر، لذلك يراعى أن لا يزيد عمق الوسط الغذائي في المخمر عن ٣–٤بوصة في الطريقة السطحية حيث ينمو الغزل الفطري على سطح سائل التخمر ، في حين يكون نمو الفطر موزع في جميع المحلول في الطريقة العميقة وبالتالي لا يتم إنتاج الحمض وبذلك فإن الطريقة السطحية هي المستخدمة عادة ، حيث أن عملية تحول السكر إلى حمض الستريك يعتمد على وجود إنزيمات داخلية ، لذلك يجب أن تمتص الخلايا مصدر الكربون من الوسط الغذائي كما يجب أن يخرج حمض الستريك من الخلايا بعد تكوينه إلى الوسط الغذائي مما يستلزم زيادة المساحة المعرضة من الغزل الفطري للوسط الغذائي ، وللحصول على ناتج أكبر من حمض الستريك يجب الحدّ من نشاط إنزيم isocitric dehydrogenase ، ويتم ذلك في الظروف اللاهوائية ، كما أن تركيز حمض الستريك نفسه ووجوده في الوسط بتركيز عالي يثبط نشاط هذا الإنزيم . وتستغرق مدة التخمر حوالي أسبوع ، وتصل كمية الحمض المتكون حوالي ٥٠٪ من كمية السكر ، وينتج الفطر أحماض أخرى إضافة إلى حمض الستريك. وبعد تمام عملية التخمر يضغط الفطر لفصل الحمض بداخله ، ثم يرسب حمض الستريك ويبلور على شكل مسحوق أبيض .

الاستخدامات الصناعية لحمض الستريك:

يستخدم حمض الستريك في تحضير العصيرات والحلويات والفواكه المجمدة ، كما يستخدم في المجال الطبي فيستخدم الملح عند نقل الدم وفي المنتجات الصيدلانية الفواره ومصدر للطاقة في الإنسان. وفي دباغة الجلود وإعادة نشاط الآبار النفطية عند انسدادها بثقوب الرمل.

إنتاج الجليسرين
Production of glycerol

يحضر الجليسرين عادة من عملية تصبن الدهون والزيوت في صناعة الصابون ، كما يمكن تحضيره بالتخمر بواسطة الخميرة إلاّ أن إنتاجها بهذه الطريقة يعتبر غير اقتصادي مقارنة بطريقة الإنتاج الأولى . وتستحق هذه العملية الاهتمام حيث أنها من أوائل عمليات التخمر التي أجريت في ألمانيا خلال الحرب العالمية الأولى لإنتاج الجليسرين لاستخدامه في صناعة المفرقعات ، حيث نشر الألماني Newporg أبحاثه عن التخمر التي لاحظها عند إضافة كبريتيت الصوديوم إلى التخمر الكحولي بواسطة الخميرة. وأول ملاحظة لإنتاج الجليسرين بالتخمر سجلها Paster أثناء عملية التخمر حيث لاحظ أن الخميرة تكون الجليسرين بنسبة تتراوح بين ٢,٥–٣,٥٪ من السكر المتخمر .وتكوين الجليسرين يعتمد على تحويل مسار عملية التخمر الكحولي بسحب الأسيتالدهيد عند تكونه فيصبح غير متوفر لأكسدة $NADH_2$ الذي يستخدم في هذه الحالة لإختزال glyceraldehydes–3–P ، ويتم ذلك إما بإضافة الكبريتات التي تكون مركب ثابت مع الأستيالدهيد يطلق عليه hydroxy acetaldehyde وبالتالي يصبح غير قادر على أكسدة $NADH_2$ ، أو عن طريق جعل وسط التخمر قلوي مما يؤدي إلى توجيه $NADH_2$ في التفاعل إلى اختزال glyceraldehydes–3–P . يستخدم عادة في إنتاج الجليسرين خميرة *Saccharomyces cerivisae* ، أو أنواع من البكتيريا مثل *Escherichia* coli . ويوضح التفاعل التالي خطوات تكوين الجليسرول :



طرق تحضير الجليسرين :

يظهر مع تحضير الجليسرين صناعياً الكحول الإيثيلي والأسيتالدهيد ويتكون فقط من ٢٠-٢٥٪ جليسرين ، ويفصل الكحول والأسيتالدهيد بالتقطير .وكما ذكر سابقاً يزداد إنتاج الجليسرين باستخدام الأحماض والقلويات أو أملاحهما . وتوجد عدة طرق معروفة لإنتاج الجليسرين بالتخمر وفي كل الطرق تستعمل بيئة أساسية تحتوي على سكر قابل للتخمر ، ويضاف إليه الأملاح والمواد الغذائية اللازمة ثم تلقح البيئة بمزرعة من الخميرة وتحفظ عند درجة حرارة ٣٠-٣٧°م ومن وقت لآخر تضاف كميات من العامل المساعد لتكوين الجليسرين .

- **طريقة الكبريتيت :**

وفيها يضاف كبريتيت الصوديوم إلى السائل المتخمر ، وعادة فإن الأسيتالدهيد يختزل إلى الكحول الإيثيلي ولكن بإضافة كبريتيت الصوديوم فإن يتفاعل مع الأسيتالدهيد ويحوله إلى مركب ثابت غير قابل لاستقبال الهيدروجين يعرف باسم hydroxyl

acetaldehyde وبالتالي يزداد تكوين الجليسرين نتيجة لان الهيدروجين الذي كان يذهب لاختزال الأستيالدهيد إلى الإيثانول يذهب لاختزال جزئ الجليسرالدهيد–٣–فوسفات إلى الجليسرين .

$$CH_3CHO + NaHSO_3 + H_2O \longrightarrow CH_2OHCHO$$

يتم الحصول بعد ذلك على الجليسرين بالتقطير ثم ينقى بالتقطير تحت ضغط ، وهذه الطريقة أنتجها الألمان .

- **الطريقة القلوية :**

هذه الطريقة أمريكية ، وفيها تلقح بيئة من السكريات بالسلالة المنتخبة من الخميرة وتحضن عند درجة الحرارة الملائمة وتضاف مادة تعطي التأثير القلوي مثل كربونات الصوديوم التي تضاف بالتدريج حسب سرعة اختفائها ، وبذلك يتحول جزئ الاستيالدهيد إلى حمض الخليك وجزئ آخر يتحول إلى كحول إيثيلي ويعرف هذا التفاعل بتفاعل cannizzro reaction وتتراوح مدة التخمر ٥–٧ أيام .

$$NaCO_3 + H_2O \longrightarrow NaOH + HCO_3$$

$$2CH_3CHO \longrightarrow CH_3CH_2OH + CH_3COOH$$

الاستخدامات الصناعية للجليسرين :

إضافة إلى استخدامه في المفرقعات ، يستخدم الجليسرين في صناعة الأدوية ، المشروبات وفي تصنيع الدهانات وأدوات التجميل .

إنتاج الأسيتون والبيوتانول

Production of Acetone & Butanol

تنتج بعض أنواع البكتيريا اللاهوائية الموجودة في الطبيعة والتي تنتمي للجنس *Clostreidium acetobutylicum* نواتج مختلفة تتضمن حمض البيوتريك وبعض المذيبات والكحولات مثل الأسيتون والبيوتانول والإيثانول ، وقد استخدمت هذه البكتيريا في إنتاج الأسيتون والبيوتانول إلى أن تم في بعض الدول التي تقدمت فيها الصناعات البتروكيميائية إنتاج هذه المواد بالطرق الكيميائية . كان مولد صناعة الأسيتون والبيوتانول أثناء الحرب العالمية الأولى بسبب الحاجة إلى مادة الأسيتون ، ويستخدم لذلك طريقة Weigman باستخدام بكتيريا *Clostreidium acetobutylicum* وهذه البكتيريا قادرة على تخمير مهروس الذرة ٦–٩٪ في الماء مع إنتاج ٣٠–٣٣٪ من المذيبات الأسيتون ، البيوتانول الأيثانول بنسبة ٣٠:٦٠:١٠ ، ويلاحظ أن الناتج الأساسي البيوتانول . ويمكن لهذه البكتيريا تخمير السكروز والمولاس مما أدى إلى التوجه لاستخدام المولاس للاستخدام الصناعي ، كما تم اكتشاف أنواع أخرى من البكتيريا لها قدرة عالية على إنتاج البيوتانول ، وأدى ذلك إلى إنتاج مصانع البيوتانول في البلاد المنتجة للسكر في العالم . ولإنتاج البيوتانول من المولاس بطريقة نموذجية يتم الأتي :

١. اختيار سلالة خاصة من بكتيريا البيوتانول يمكنها أن تنتج أعلى نسبة من البيوتانول (يمكن أن تصل النسبة إلى ٧٤٪) .
٢. يخفف المولاس المهروس إلى ٥–٦٪ سكر مع إضافة الأمونيا في صورة كبريتات الأمونيوم كمصدر غذائي نيتروجيني .
٣. يضبط الرقم الهيدروجيني أثناء التخمر باستخدام كربونات الكالسيوم .

العوامل الواجب ضبطها عند إنتاج الأسيتون والبيوتانول :

المصدر الكربون : يمكن استخدام المخلفات الكربوهيدراتية القابلة للتخمر مثل المولاس المعدل به نسبة السكر إلى ٥–٦٪ . أو مهروس الذرة بنسبة ٦–٩٪ من الوسط الغذائي .

تركيز أيون الهيدروجين : يضبط الرقم الهيدروجيني عند ٧,٢ .

درجة الحرارة : تتراوح بين ٣٢–٣٧°م .

الكائن الدقيق المستخدم : يختلف باختلاف المصدر الكربوني ففي حال استخدام مهروس الذرة يضاف لقاح *Clostridium acetobutylicum* ، وإذا استخدم المولاس *Cl. Saccharoacetobutylicum* .

التهوية : هذه البكتيريا لا هوائية إجبارية ولذلك تتم عملية الإنتاج تحت الظروف اللاهوائية .

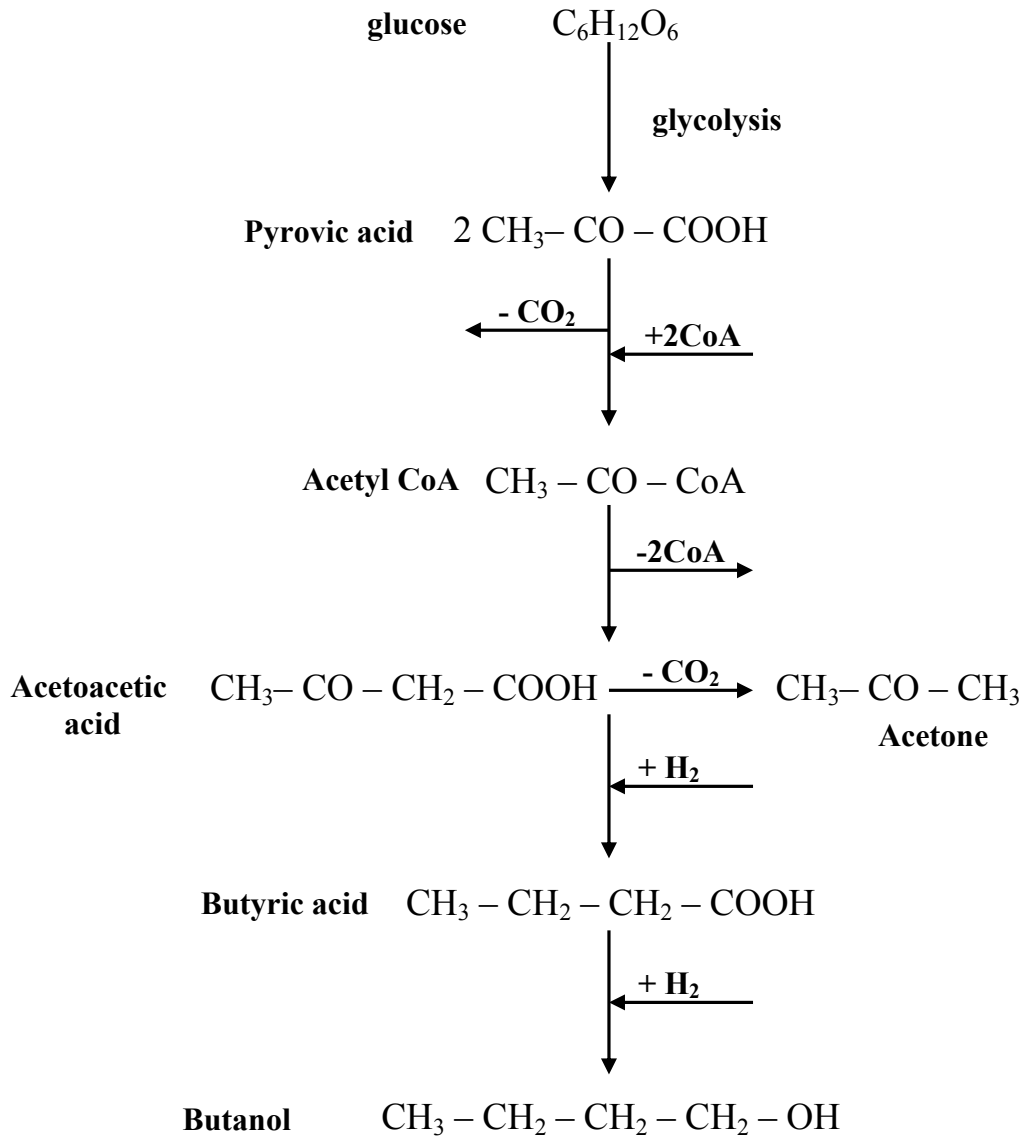
الأملاح المعدنية : تضاف كبريتات الأمونيوم عند استخدام المولاس كوسط تخمر .

طريقة تحضير الأسيتون :

تتم عملية التخمر في أحواض كبيرة جداً غالباً ما تسع ٦٠,٠٠٠ جالون ، ويستخدم بادئ حجمه حوالي ٥٪ من حجم المهروس عند درجة الحرارة المثلى للمزرعة . وتجرى عملية التخمر بسرعة ويؤخذ السائل المتخمر لاستخلاص المذيبات الطيارة بالتقطير بعد ٤٨–٦٠ ساعة . ومن الملاحظ ضرورة مراعاة ظروف التعقيم إلى أقصى درجة لمنع التلوث ببكتيريا حامض اللاكتيك أو البكتيريوفاج الذي يؤدي إلى فشل ذريع لتخمر البيوتانول . وفي عملية التخمر يسلك التخمر طريق glycolysis ليصل إلى حمض البيروفيك الذي ينقسم ليعطي acetyl CoA و CO_2 . وتوضح المعادلات في **شكل (٦)** خطوات تكوين الأسيتون والبيوتانول .

النواتج الثانوية لعملية التخمر :

أثناء التخمر تتكون كمية كبيرة من غازات CO_2 تصل إلى حوالي ٦٧٪ من جملة الغازات الناتجة ، وحوالي ٣٣٪ من غاز الهيدروجين وتجمع الغازات الناتجة لتستخدم في الأغراض الصناعية .



شكل (٦) : التفاعلات البيولوجية التي تتم لتكوين الأسيتون والبيوتانول من جزئ الجلوكوز .

إنتاج الأحماض الأمينية
Production of Amino acids

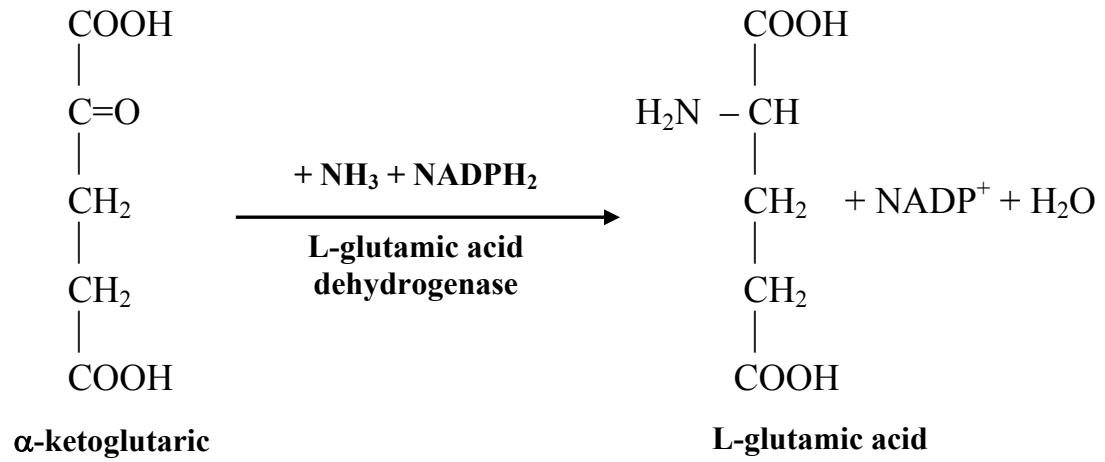
تنتج الكائنات الدقيقة الأحماض الأمينية من مواد نيتروجينية غير عضوية ، ومعدل إنتاج الأحماض الأمينية أسرع من معدل إنتاج البروتين وحيد الخلية . ومن الأحماض الأمينية التي يمكن إنتاجها بواسطة الكائنات الدقيقة الليسين ، الجلوتاميك والتربتوفان . وهناك ثلاث طرق مختلفة لإنتاج الأحماض الأمينية تجارياً :

١. تحلل البروتين .
٢. التصنيع الكيميائي .
٣. استخدام الكائنات الدقيقة للإنتاج ، وسيتم التعرض لهذه الطريقة حيث يمكن إنتاج الأحماض الأمينية بثلاث طرق مختلفة :
   ١. تخمر مباشر لإنتاج الأحماض الأمينية من مصادر كربونية مثل الجلوكوز ، الفركتوز ، المولاس ، النشا ، الإيثانول ، الجليسرول وغيرها من المواد الكربونية .
   ٢. التحول الميكروبي للمواد الوسطية إلى أحماض أمينية .
   ٣. استخدام الإنزيمات .

يعتبر إنتاج الأحماض الأمينية صناعة ضخمة حيث أتسع المجال باكتشاف L-glutamate كتابل للطعام ، بدأت بعد ذلك شركة Ajinomoto Co. اليابانية الإنتاج التجاري للمركب monosodium L-glutamate من جلوتين القمح أو من بروتين فول الصويا ، ثم تمكن Suzuki(1967) من إنتاج حامض الجلوتاميك باستخدام البكتيريا مثل جنس *Brevibacterium* sp. , *Corynobacterium* sp. .وفي عام ١٩٦٩م أمكن إنتاج أحماض أمينية أخرى مثل الليسين والفالين بطفرات للبكتيريا *Brevibacterium* sp. . وللأهمية الاقتصادية للحمض الأميني الجلوتاميك والليسين سيتم توضيح طريقة إنتاج كل منهما صناعياً :

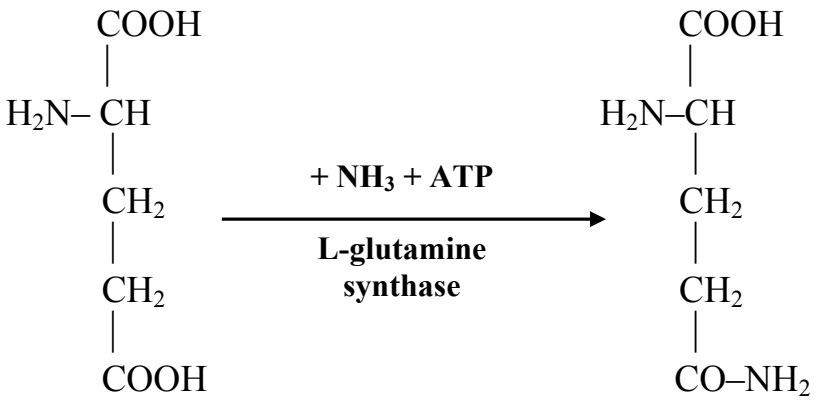
إنتاج الحمض الأميني الجلوتاميك والجلوتامين Production of L-glutamic acid and glutamine :

يمكن لكثير من أنواع البكتيريا والفطريات إنتاج كميات كبيرة من الحمض الأميني الجلوتاميك ، وتستخدم بعض هذه الأنواع في الإنتاج الصناعي للحمض ، ومنها الأجناس *Micrococcus* sp. , *Arthrobacter* sp. And *Brevibacterium* sp. ، وتتكون البيئة الغذائية اللازمة للإنتاج من مصدر كربوهيدراتي ، بيتون ، أملاح معدنية وبيوتين . ويتكون حمض الجلوتاميك من المادة الأولية له وهي α-ketoglutaric وهي أحد نواتج دورة كربس . ويتم هذا التفاعل بمساعدة إنزيم L-glutamic acid dehydrogenase في وجود NADP وNH_3 كما في المعادلة التالية :



α-ketoglutaric **L-glutamic acid**

أيضاً يمكن في وجود الأمونيا أن يتحول حمض الجلوتاميك إلى الجلوتامين بمساعدة إنزيم L-glutamine synthetase ويحتاج هذا التفاعل لطاقة ATP كما في المعادلة :

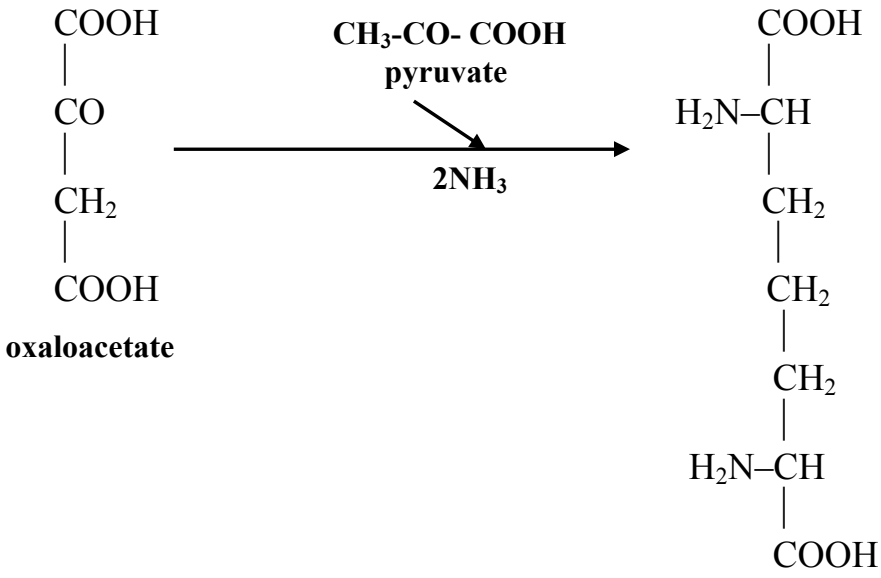


L-glutamic acid **L-glutamine**

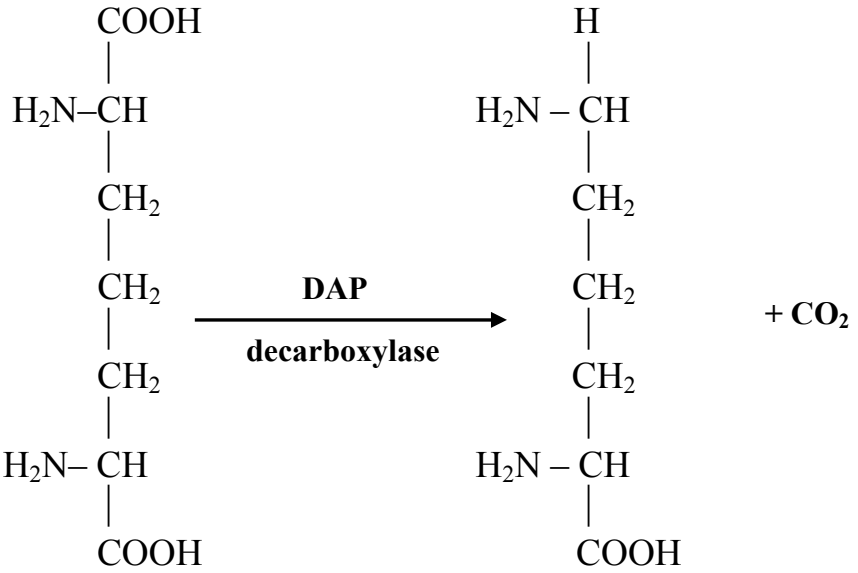
إنتاج الحمض الأميني الليسين Production of Lysine :

يمكن تحضير الليسين بالتحلل المائي لمادة α–amino caprolactam ، كما يمكن إنتاجه بالطرق الإنزيمية باستخدام الجلوكوز ومصدر إنزيمي وبكتيريا *Brevibacterium flavum* ، وينتج معظم الليسين بطريقة التخمر . ويصنع الليسين على خطوتين بواسطة نوعين من البكتيريا :

الخطوة الأولى : وتشمل إنتاج حمض Diaminopimelic acid (DAP) بواسطة بكتيريا *E. coli* من المركب oxaloacetate الناتج من دورة كربس ، كما في الخطوات التالية :



الخطوة الثانية : يحدث فيها انتزاع مجموعة الكربوكسيل CO_2 من حمض DAP المتكون في الخطوة الأولى وذلك بمساعدة إنزيم DAP decarboxylase الذي يتكون بواسطة البكتيريا *Enterobacter aerogenes* ، كما في المعادلة :



Diaminopimelic acid (DPA) **L-lysine**

وتتلخص خطوات الإنتاج في تنمية *E.coli* في وسط غذائي يتكون من الجليسرين ومستخلص منقوع الذرة وفوسفات الأمونيوم ، تحت الظروف المثلى من درجة الحرارة ، التهوية والرقم الهيدروجيني ، وتستمر مدة التحضين ٧٢ ساعة ، ثم يضاف الإنزيم الخاص بالخطوة الثانية DAP decarboxylase وبكتيريا *B.aerogenes* للحصول على L-lysine .

العوامل الواجب ضبطها عند إنتاج الأحماض الأمينية :

المصدر الكربوني : يمكن استخدام الجلوكوز ، الفركتوز ، السكروز ، المولاس ، النشا بالإضافة لبعض الأحماض العضوية والكحولات .

المصدر النيتروجيني : تستخدم الأمونيا ، أملاح الأمونيوم أو مركبات تحتوي على نيتروجين أو مستخلص لحم ، فول الصويا والفول السوداني واليوريا .

المركبات غير العضوية : يضاف إلى وسط التخمر فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين وأحادية الهيدروجين ، كبريتات الحديدوز ، المغنيسيوم ، كبريتات المنجنيز ، النحاس وكربونات الكالسيوم .

مواد منشطة : تضاف بعض المواد المحفزة لنمو الكائن الدقيق المنتج للحمض الأميني الليسين مثل الفيتامينات كالبيوتين ، الثيامين ، حمض النيكوتينك وأحماض أمينية إضافة إلى بعض مضادات الحيوية مثل الاستربتوميسين .

الرقم الهيدروجيني : ويتراوح بين ٥–٩ ، ومن الأفضل حفظها عند درجة التعادل بإضافة كربونات الكالسيوم أو محاليل منظمة .

درجة الحرارة : تتراوح بين ٢٨–٣٠°م ، وتمنع درجات الحرارة المرتفعة نمو الكائن الدقيق .

التهوية : تحتاج معظم الكائنات الدقيقة المستخدمة في الإنتاج الصناعي للحمض الأميني الليسين إلى إمداد مستمر من الأكسجين ، ولابد من المحافظة على معدل الأكسجين المذاب في وسط التخمر لإنتاج كمية كبيرة من الليسين .

أهمية الحمض الأميني الليسين :

١. الليسين من الأحماض الأمينية التي لا يستطيع الجسم أن يصنعها بالكميات اللازمة لعملية النمو وتجديد الخلايا لذلك لابد أن يضاف إلى الغذاء كالحبوب والأرز .

٢. تتأثر الأحماض الأمينية بالحرارة حيث تؤدي المعاملة الحرارية للبن المجفف للأطفال إلى تلف الحمض الأميني الليسين لذلك يضاف هذا الحمض الأميني إلى لبن الأطفال المجفف .

٣. يضاف إلى العلائق والعلف لرفع القيمة البروتينية فيها .

٤. يضاف لبعض الأدوية مثل الفيتامينات المستخدمة كمجددة للنشاط العقلي والعضوي ويزيد من مقاومة الجسم للإجهاد .

٥. الأحماض الأمينية لا تخزن في الجسم وتتوقف استفادته منها على وجود جميع الأحماض الأمينية الضرورية في وقت واحد، وفي حالة نقص أحدها فإن الجسم لا يستطيع تمثيل الموجود منها فتطرد خارج الجسم .

إنتاج الإنزيمات
Production of Enzymes

يمكن تعريف الإنزيمات بأنها مواد بروتينية تفرز بواسطة الكائنات الحية وتختص بعمليات كيميائية حيوية محددة ، وتوجد في جميع الكائنات الحية البدائية والراقية ، وهي ذات أهمية في الصناعة التخمرية حيث أن التخمر ما هو إلاّ نتيجة نشاط الإنزيمات التي تفرزها الكائنات الدقيقة . ويمكن الحصول على الإنزيمات صناعياً من ثلاث مصادر رئيسية :

- النباتات الراقية : ومن أمثلة ما ينتج منها دياستيز المولت .
- الحيوانات : وتفرز بعض الإنزيمات مثل الببسين والتربسين .
- الكائنات الدقيقة : وتنتج العديد من الإنزيمات مثل السليوليز ، الأميليز ، البكتينيز ، البروتييز والليبيز .

وإنتاج الإنزيمات من النباتات الراقية أو الحيوانات غير مجدي اقتصادياً حيث يحتاج إلى مساحات شاسعة لزراعة هذه النباتات أو تربية الحيوانات ، وبذلك فإن إنتاج الإنزيمات بواسطة الكائنات الدقيقة يُعد ذا أهمية اقتصادية ، وقد أمكن عزل العديد من الإنزيمات سواء من البكتيريا ، الفطر أو الخميرة ومن ثم دراسة الظروف الملائمة لنشاطه سواء كانت درجة الحرارة ، الرقم الهيدروجيني ، الرطوبة ، التهوية، المثبطات وغير ذلك من العوامل المؤثرة على هذا النشاط للوصول إلى أمثل الظروف للحصول على أعلى إنتاج للإنزيم .ومن الأسباب التي تجعل الكائنات الدقيقة من أفضل مصادر الإنزيمات :

١. الكائنات الدقيقة غنية بالعديد من الإنزيمات وبتوفر الظروف الملائمة لإنتاج إنزيم معين يمكن تحفيز الكائن الدقيق على إفراز هذا الإنزيم بكمية كبيرة .
٢. سرعة الإنتاج نتيجة لمعدل التكاثر السريع للكائن الدقيق .
٣. انخفاض التكاليف .
٤. لا تحتاج لمواسم معينة كما في النباتات التي تزرع حسب الموسم الزراعي المناسب لها .

من أهم الكائنات الدقيقة التي تستخدم في إنتاج الإنزيمات على نطاق تجاري *Bacillus subtilis* , *Clostridium* sp., *Aspergillus* sp. , *Penicillium* sp. and *Mucor* ap. كما توجد بعض الخمائر التي يمكن استخدامها في إنتاج الإنزيمات .

يمكن تقسيم الإنزيمات إلى مجموعتين :

- **إنزيمات خارجية :** وهي تفرز خارج الخلايا في وسط النمو ، ولاستخلاص الإنزيم تجرى عملية طرد مركزي للتخلص من الخلايا المعلقة ثم يفصل الإنزيم من المحلول الرائق بالترسيب.
- **إنزيمات داخلية :** وتوجد داخل الخلايا في السيتوبلازم ، ويلزم للحصول عليها طحن الخلايا أو تحليلها لتحرير الإنزيم ثم يفصل بالطرق المعتادة.

إنتاج الإنزيمات المحللة للكربوهيدرات :

الإنزيمات المحللة للكربوهيدرات إنزيمات خارجية يفرزها الكائن الدقيق في وسط النمو ، وينتج الإنزيم بواسطة عدد كبير من الكائنات الدقيقة . تتميز الإنزيمات بتخصصها على المادة التي تحللها ، ومن أهمها الفا أميليز ، دكسترينيز ، السليوليز ، المالتيز ، الأنفرتيز والأنيوليز. ومن أهمها صناعياً الأميليز والدكسترينيز والمالتيز ، وتعتمد كمية الإنزيم المنتجة على السلالة المنتجة وعلى تركيب الوسط وظروف النمو.

إنزيم الأميليز :

تشمل إنزيمات الأميليز طرازين ، يحلل الفا أميليز النشا جزئياً إلى الدكسترين ، ويحلل بيتا أميليز النشا إلى مالتوز .وتحتوي إنزيمات الأميليز الناتجة من الحبوب المنبتة عادة على كلا الطرازين وتنتج أنواع من البكتريا الألفا أميليز فقط لذلك فإن الإنزيم الناتج يكون صالحاً في حالة تحليل النشا إلى دكسترين ، في حين تنتج الفطريات البيتا أميليز.ومن أنواع البكتيريا المنتجة للإنزيم , *Bacillus subtilis* *Clostridium acetobutylicum* , *Pseudomonas saccharophila* and *Actinomyces* sp. كما أن هناك أنواع عديدة من الفطريات تستخدم لإنتاج الإنزيم منها , *Aspergillus niger* , *Penicillium notatum* *Monilia* sp. , *Mucor* sp. And *Rhizopus* sp. . تختلف المواد الخام المستخدمة في الإنتاج حيث يمكن استخدام الأرز، أنواع من الحبوب كالذرة والقمح وغالباً ما يُستخدم ردة القمح ومستخلص منقوع الذرة .ويتم إنتاج الإنزيم بإحدى طريقتين :

- **الطريقة السطحية :**

يستخدم فيها الفطريات مثل فطر *A. oryzae* ، حيث تنقع ردة القمح في الماء أو الحمض المخفف مثل HCl بنسبة ١:٢ ، ويتم تعقيم الردة بواسطة دفع تيار من البخار مباشرة في الوسط الغذائي لمدة ٣٠ دقيقة مع الرج المستمر ، ثم يستبدل البخار بتيار بارد من الهواء المعقم وذلك لخفض درجة حرارة الردة إلى ٣٥°م . يلقح الوسط الغذائي بجراثيم الفطر باستخدام الرش ، بعد ذلك يتم

التحضين بنشرها على صواني قاعدتها مصنوعة من سلك ذو ثقوب ضيقة جداً أو قماش متين ، وتوضع في طبقات سمكها بوصتين. ويتم التحكم في درجة الحرارة بواسطة تيار مستمر من الهواء ، وفي نهاية التخضين يستخرج الإنزيم .

- **الطريقة المغمورة :**

وتنمى فيها بكتيريا *B. subtilis* في منابت غذائية سائلة تحت ظروف الإنتاج المثلى ، وبعد إنتهاء فترة التحضين تزال خلايا البكتيريا بالطرد المركزي ثم يركز المحلول بالطرق الكيميائية .

أهمية الإنزيم :

يستخدم إنزيم الأميليز في :

١. صناعة الورق
٢. صناعة الغزل والنسيج .
٣. صناعة الخبز حيث يقوم بتحليل النشا إلى سكر وبالتالي يمكن للخميرة أن تخمر الجلوكوز وتنتج كمية كبيرة من CO_2 الذي يعطي الخبز الشكل الأسفنجي .
٤. صناعة الكحول حيث يستخدم لتحويل المواد النشوية إلى سكريات قابلة للتخمر .
٥. ترويق عصير الفاكهة من النشويات العالقة .
٦. بعض الصناعات الطبية والدوائية ولإنتاج الجلوكوز الطبي .
٧. عمليات التنظيف الجاف بخلطه مع الإنزيمات المحللة للبروتينات في مساحيق التنظيف .

إنزيم الأنفرتيز :

يحلل إنزيم الأنفرتيز السكروز تحليلاً مائياً إلى جلوكوز وفركتوز ، ويحضر الإنزيم بالتحليل الذاتي لخميرة *Saccharomyces cervisiae* التي تنمى تحت ظروف ملائمة لإنتاج أكبر كمية من الإنزيم ، ثم تطحن خلايا الخميرة أو تحلل لإستخلاص الإنزيم .

أهمية الإنزيم :

١. يستخدم الإنزيم في صناعة الحلويات .

٢. تمنع إضافة الإنزيم تبلور السكر وذلك في حال استخدام السكروز .

إنتاج الإنزيمات المحللة للبروتين :

تعتبر الإنزيمات المحللة للبروتين من إنزيمات التحلل المائي ، أيّ تقوم بتحليل البروتينات إلى مواد أبسط في وجود الماء ، ولهذه الإنزيمات أهمية في المجال الصناعي وأهمها إنزيم البكتينيز والبروتينيز . وتنتج هذه الإنزيمات بواسطة أنواع عديدة من البكتيريا مثل *Bacillus subtilis* , *B. niegaterium* , *Clostridium sporogenes* , *Serratia* sp. ، ومن أمثلة الفطريات *Aspergillus flavous* , *A. fumigatus* , *A. niger* , *Penicillium* sp. , *Mucor* . وتستخدم الأوساط المنتجة لإنزيمات الأميليز في إنتاج إنزيمات البروتييز باختلاف الظروف الخاصة للإنماء من درجة حرارة ورقم هيدروجيني وتهوية .

إنزيم البكتينيز : يحلل البكتينيز البكتين تحللاً مائياً إلى سكريات بسيطة وأحماض اليورونيك ، وينتج الإنزيم بواسطة أنواع من *Penicillium* sp. .

إنزيم البروتينيز : تحتوي إنزيمات البروتينيز على عدد من الإنزيمات المحللة للمواد البروتينية حيث يحللها إلى عديد الببتيدات ويفرز إنزيم البروتينيز خارج الخلايا ، ثم يفرز إنزيم الببتيديز داخل الخلايا ويحلل الببتيدات إلى أحماض أمينية .وينتج الإنزيم بواسطة بكتيريا *B.subtilis* وفطر *Aspergillus* sp. , *Penicillium* sp. , *Mucor* sp. .

أهمية الإنزيم :

١. صناعة الغراء .

٢. صناعة وديغ الجلود لإزالة الصوف والشعر منها وتحسين جودتها .

٣. صناعة الحرير .

٤. صناعة بعض المستحضرات الطبية مثل إنتاج زيت كبد السمك ومراهم الحروق.

٥. تطرية اللحوم مما يزيد القدرة على هضمها وتقليل مدة الطهي .

٦. ترويق بعض المشروبات التي يتكون بها عكارة أثناء التخزين.

٧. يضاف إلى العلف الحيواني ليزيد من كفاءته الهضمية .

إنتاج الفيتامينات
Production of Vitamin

يوجد العديد من الفيتامينات التي تتكون خلال العمليات الحيوية للكائنات الدقيقة ولكن يحضر فقط فيتامين B_{12} والرايبوفلافين صناعياً . وتنتج الخميرة أنواع من الفيتامينات يتم تحضيرها في شكل أقراص ، ولتحضير الفيتامينات بصورة نقية تستخدم الأجناس *Bacillus* , *Ashbya* , *Propionibacterium* , *Streptomyces* , *Pseudomonas* , . وينتج فيتامين B_{12} صناعياً بواسطة بكتيريا *Propionibacterium* ، في حين يستخدم فطر *Ashbya* لإنتاج الريبوفلافين صناعياً .

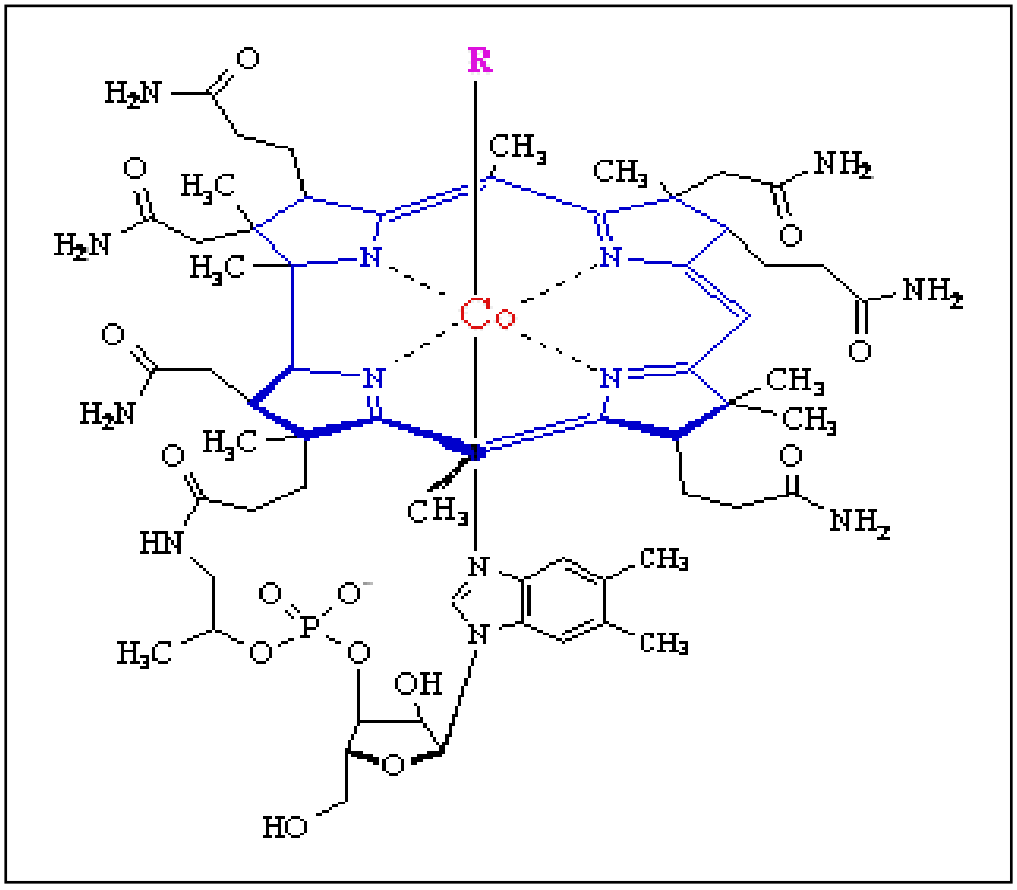
فيتامين B_{12} :

من الفيتامينات التي تذوب في الماء ، ويعد فيتامين B_{12} من أهم الفيتامينات التي تمنع الإصابة بفقر الدم ، وبالرغم من إنتاجه بواسطة الكائنات الدقيقة التي تعيش في أمعاء الإنسان إلاّ أنه لا يستطيع الاستفادة منه وقد يرجع ذلك إلى احتمال أنه لا يتخلق هناك أو أنه يتخلق لا يتحرر من خلايا البكتيريا التي تخلقه وبالتالي لا يحدث له امتصاص ، والفيتامين عبارة عن مجموعة مركبات تحتوي على حلقة بورفرين porphrim مركزها معدن الكوبالت CO ويطلق عليها الكوباميدات cobamide ، وتختلف هذه الكوباميدات عن بعضها البعض بالسلاسل الجانبية المرتبطة بحلقة البورفرين ويوضح **شكل (٧)** مركب فيتامين B_{12}.

ينتج هذا الفيتامين عن التخمر بواسطة الكائنات الدقيقة مثل , *Propionibacterium* , *Streptomyces* *Bacillus* , *Pseudomonas* , *Flavobacterium* . وينتج الفيتامين كناتج ثانوي أثناء تصنيع مضاد الحيوية streptomycin بواسطة *Streptomyces griseus* ، ويتحرر أيضاً كناتج لصناعة الأسيتون والبيوتانول كما تبين أن هذا الفيتامين يوجد بتركيز عالي نسبياً عند معاملة فضلات المجاري بالكائنات الدقيقة . وأنسب الأوساط الغذائية للإنتاج تحتوي على خلاصة اللحم ، مستخلص نقيع الذرة ، الكازين وخلاصة الخميرة ، وفي حالة الكائنات الدقيقة التي تنتج أحماض نتيجة للتخمر يضاف إلى وسط الزرع محاليل منظمة للمعادلة وللحصول على أعلى النتائج ، كما يلزم إضافة معدن الكوبلت لوسط الزرع .

الرايبوفلافين Riboflavin :

يستخدم هذا الفيتامين كغذاء للحيوان ، ويعتبر أساسي لنمو وتكاثر الإنسان والحيوان حيث يوجد كجزء من مرافقا الإنزيم فلافين أحادي النيوكليوتايد FMN وفلافين أدنين ثنائي النيوكليوتايد FAD .ويصنع هذا الفيتامين بواسطة الكائنات الدقيقة *Eremothecium ashbyii* و *Ashbya gossypii* ، كما يتكون الفيتامين كناتج عرضي لصناعة الأسيتون والبيوتانول من البكتيريا اللاهوائية *Clostredium* .تستخدم الأوساط الزرعية المحتوية على سكريات إضافة إلى مركبات عضوية أخرى غير نقية ويمكن استبدال السكر بزيوت نباتية مثل زيت الذرة وتستخدم المزارع المغمورة المعرضة لتيار قليل الهواء ، ولابد من مراعاة كمية الهواء الداخل للحصول على نمو غزير للغزل الفطري ويتكون هذا الفيتامين في مرحلة تكوين الجراثيم حيث يحصل تغير في تنفس الفطر باستخدام الفلافوبروتين بدلاً من السيتوكروم في عملية التنفس ، ونتيجة لذلك تتكون كمية أكبر من الفلافين .



شكل (٧) : التركيب البنائي لفيتامين B_{12} .

إنتاج مضادات الحيوية
Production of Antibiotic

تعتبر مضادات الحيوية مركبات عضوية تنتج بواسطة الكائنات الدقيقة كمركبات ثانوية ليس لها دور في الخلية التي تنتجها ، ولكن لها القدرة بتركيز منخفض على الحد من نمو كائن دقيق أو القضاء على كائن دقيق آخر وهذه الكائنات تكون غير منتجة لها ، ولا يشمل هذا التعريف المواد المستخلصة من النباتات الخضراء . تتخصص مضادات الحيوية بنوع الكائن الدقيق الذي يكونها ولكل منها مجموعة خاصة من الكائنات الدقيقة التي تتأثر بها عند العلاج يطلق عليها طيف التثبيط Inhibition spectrum ، حيث تؤثر بعض مضادات الحيوية على أنواع معينة من الكائنات الدقيقة الممرضة مثل البكتيريا الموجبة لجرام دون السالبة أو العكس وتعرف هذه المضادات بأنها محدودة النطاق limited spectrum antibiotic ، وهناك أنواع من مضادات الحيوية واسعة النطاق broad spectrum antibiotic فتؤثر على أنواع عديدة من الكائنات الدقيقة الممرضة مثل البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام.

تاريخ اكتشاف مضادات الحيوية قديم ويرجع إلى ١٨٨٩م حين لاحظ العلماء إفراز بعض الكائنات الدقيقة لمركبات تقضي على كائنات أخرى لتواصل نموها ، وتم بعد ذلك اكتشاف أول مضاد حيوي بواسطة Alexander Fleming عام ١٩٢٩م والذي أطلق عليه اسم البنسيلين penicillin ، وذلك أثناء إجراء تجارب على مزارع *Staphylococcus aureus* ملوثه ببعض الفطريات ، فقد وجد أن نمو هذه البكتيريا توقف وخلاياها تحللت نتيجة لنمو الفطريات وعند فحص الفطريات النامية وجد أنها تنتمي للجنس *Penicillium* ومن هنا أخذ المضاد أسمه . وتوالت بعد ذلك الاكتشافات لمضادات الحيوية المنتجة من الكائنات الدقيقة حيث تم عزل مضادات من الجنس *Bacillus* تقضي على البكتيريا الموجبة لجرام ، ثم اكتشف Waksman عام ١٩٤٠م مضاد الحيوي streptomycin ، تلا ذلك اكتشاف chloramfencol و chlortetracycline عام ١٩٤٧م ، وبعد ذلك توالت الاكتشافات وتم إنتاج مئات المضادات للحيوية والتي تستخدم لعلاج الإنسان من إصابات عدوى البكتيريا أو عدوى الفطريات ، كما تم تصنيع مضادات الحيوية لعلاج الإصابات البكتيرية أو الفطرية للحيوان أو النبات . ويتم إنتاج مضادات الحيوية عن طريق الصناعات

التخمرية والتي تطورت تطوراً كبيراً في الوقت الحالي ، حيث تنتج مضادات الحيوية بواسطة بعض أنواع البكتيريا أو بعض أنواع الفطريات ، إلاّ أن أهم مضادات الحيوية هي التي تنتجها *Streptomyces* sp. حيث تتميز بقيمتها العالية من الناحية العلاجية والتجارية .

ومن أهم مضادات الحيوية التي ينتجها الجنس *Streptomyces* sp. الاستربتوميسين ، نيومايسين ، كاناميسين ، تتراسيكلين وارثرومايسين. ويعتبر penicillin و cephalosporin مضاد الحيوية الوحيدان ضد البكتيريا وينتجان من الفطريات .

كما يصعب تحضير أغلب مضادات الحيوية كيميائياً ويستثنى من ذلك chloramphenicol الذي ينتجه النوع *Sccharomyces venezuelae* حيث أتضح أن تركيبه الكيميائي يمكن تخليقه بطرق كيميائية .وتعمل مضادات الحيوية على الكائنات الدقيقة التي تؤثر فيها بتوقيف تكوين البروتين أو تمثيل الأحماض الأمينية أو تكوين جدار الخلية أو توقف انقسامات الخلية وبالتالي يتوقف نمو الخلية وتعمل بعض الأنواع على إيقاف تكوين الإنزيمات المحفزة أو التأثير على وظيفة غشاء الخلية .

إنتاج البنسلين :

البنسلين ليس تركيب لمضاد حيوي واحد وإنما أنواع عديد يطلق عليها البنسلينات تختلف فيما بينها في تركيب السلسة الجانبية التي تتصل بالجزء الأساسي الممثل بحمض 6-amino penicillanic acid . استخدم في صناعة البنسلين بادئ الأمر نفس العزلة من *Penicillium notatum* التي اكتشفها Fleming ، بعد ذلك اختبرت عدة أنواع من الفطريات وأتضح أن النوع *Penicillium chrysogenum* لها القدرة على إنتاج البنسلين بكمية أكبر ، وهذا النوع يستعمل حالياً في الإنتاج الصناعي بعد أن أجريت عليه طفرات وراثية لزيادة إنتاجه . ويتخلق البنسلين في طور النمو الثابت للفطر ويطلق إلى الوسط الزرعي حال تكونه ، وفي بداية تصنيع البنسلين كان ينمى الفطر في أوساط زرعية مصنعة وتبين أن هذه الأوساط تصبح أكثر ملائمة للإنتاج إذا أضيف إليها بعض المركبات العضوية الطبيعية مثل مهضوم الكازين casein digest أو خلاصة اللحم meet extract أو الخميرة yeast أو مصادر نيتروجينية أكثر تعقيداً مثل خلاصة بذور الدهن كبذور القطن أو خلاصة فول الصويا أو غيرها من المركبات . إن الوسط الزرعي المستخدم في الوقت الحالي للأغراض الصناعية معقد التركيب يحتوي على سائل نقيع الذرة ومصدر السلسلة الجانبية للبنسيلين المراد تصنيعه ، لاكتوز وأملاح أخرى ، يبدأ الفطر باستهلاك المواد النيتروجينية وحامض اللاكتيك المتوفرة في سائل نقيع الذرة ، وعند قرب استهلاك مركبات الكربون من الوسط يبدأ الفطر في إنتاج البنسلين كناتج عرضي ، وقد تم زيادة الإنتاج بالسيطرة على ظروف الزرع الأخرى من تهوية ، درجات حرارة ورقم هيدروجيني . **ويتم إنتاج البنسيلين عادة بطريقتين :**

- **التخمر السطحي surface fermentation :**

تتم في هذه الطريقة تنمية الفطر سطحياً في دوارق كبيرة بحيث ينمو على سطح الوسط الغذائي مكوناً مسطح من الميسليوم ، ويحصل الفطر على الأكسجين اللازم لنموه من الهواء الموجود في الدورق ويفضل عدم رج الدورق للمحافظة على الغزل الفطري على السطح. وتستخدم هذه الطريقة في الصناعة على نطاق واسع باستخدام مخمرات كبيرة يوضع فيها كمية كافية من الوسط الغذائي لإمداد الفطر بسطح واسع وعمق ضئيل حيث أن العمق المناسب للإنتاج حوالي ٢سم ولا يزيد عن ٤سم . بعد تعقيم الوسط الغذائي يلقح بواسطة جراثيم الفطر ثم تحضن عند درجة حرارة ٢٤°م ويحافظ على هذه الدرجة طول فترة التخمر التي تستمر من ٥–١١يوم تبعاً لظروف التخمر والسلالة المستخدمة في الإنتاج .وتستخدم عادة سلالة *P. notatum* لإنتاج البنسيلين بهذه الطريقة .

وتحتاج هذه الطريقة إلى مجهود بشري وأماكن وحضانات كبيرة لاستيعاب أعداد المخمرات ، لذلك يفضل استخدام الطريقة الثانية لتوفيرها للمجهود والحيز.

- **التخمر بالطريقة المغمورة submerged fermentation :**

تستخدم هذه الطريقة لإنتاج البنسيلين الأساسي penicillin G الذي ينتج بواسطة طفرات معينة من سلالة تابعة للنوع *P. chrsogenum* ، حيث أن قدرة السلالة *P. notatum* على إنتاج البنسيلين بهذه الطريقة أقل بكثير من قدرتها على إنتاجها بالطريقة السابقة . ولإنتاج هذا النوع من البنسيلين ينمى الفطر على وسط غذائي يحتوي على مستخلص منقوع الذرة . وتستخدم مخمرات عميقة مجهزة بتوصيلات للتهوية والتقليب مع المحافظة على درجة الحرارة عند المستوى المرغوب طول فترة التخمر.

مصدر الكربون : يضاف السكروز أو أيّ من السكريات السهلة الامتصاص بواسطة خلايا الفطر ، كما يضاف إلى وسط التنمية بعض المواد اللازمة لتحسين الإنتاج .

البادئ : يؤخذ حوالي ١,٥٪ من معلق الكونيدات الناتج من مزرعة منماة على وسط غذائي به كلوريد الكالسيوم ويلقح به أول مرحله من مراحل العملية . وتعاد عملية الزرع مع زيادة حجم المخمر في كل مرة وبالتالي حجم اللقاح وأعداد الكونيدات لتتناسب مع الحجم النهائي للوسط الغذائي المستخدم في إنتاج البنسيلين تجارياً .

الرقم الهيدروجيني : تستخدم كربونات الكالسيوم والفوسفات غير العضوي مثل فوسفات البوتاسيوم احادية الهيدروجين للمحافظة على المستوى اللازم للحموضة .

التهوية : الفطر هوائي إجباري وذلك لابد من المحافظة على الظروف الهوائية في المخمرات العميقة ، ويتم ذلك بتمرير الهواء المعقم خلال مضخات ويعتمد معدل التمرير على سعة المخمر وعمق الوسط الغذائي وطبيعته .

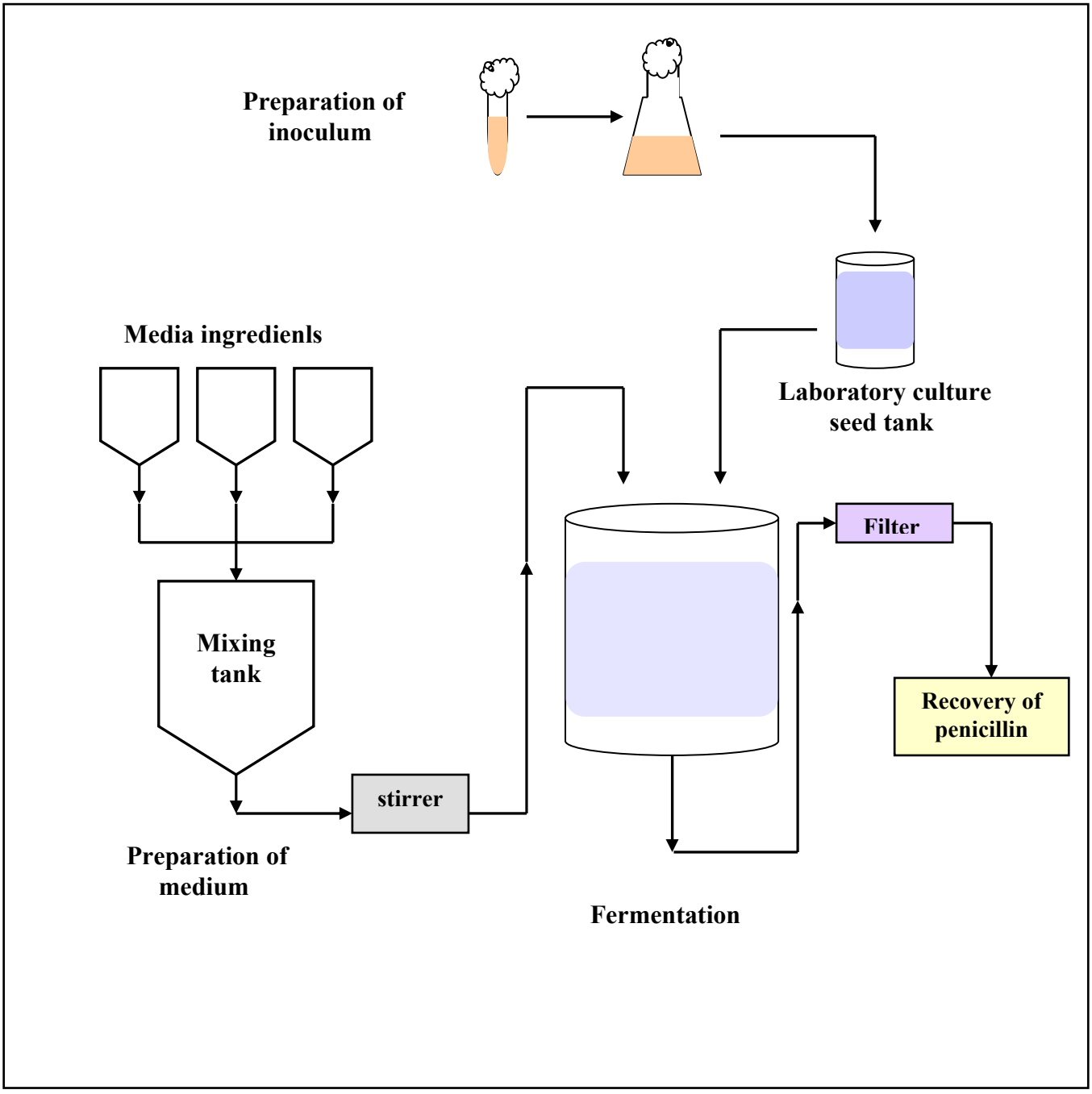
المواد اللازمة لوسط الزرع : يتم إضافة زيوت نباتية أو حيوانية إلى وسط الإنتاج ولذلك أهمية في توجيه التفاعلات الحيوية ناحية الإنتاج ، كما تعمل على تغيير شكل الغزل الفطري بحيث تطيل فترة حيوية الخلايا في وسط الإنتاج خاصة إذا تمت المحافظة على مستوى النيتروجين فلا يتعدى الحد الأدنى .

تتم عملية التخمر لوسط الإنتاج على مرحلتين :

المرحلة الأولى : يحدث فيها نمو سريع ، وفي هذه المرحلة يرتفع الرقم الهيدروجيني من ٥–٧,٥ ، ويرجع ذلك إلى عدة عوامل منها انطلاق الأمونيا من الأحماض الأمينية الموجودة بمستخلص منقوع الذرة ، ويتم التحكم في ارتفاع الرقم الهيدروجيني وجود المنظمات في وسط الإنتاج ، كمية المواد الكربوهيدراتية ، وجود العوامل المساعدة للنمو ونواتج العمليات الحيوية .وتستمر هذه المرحلة ٤٨–٦٠ ساعة .

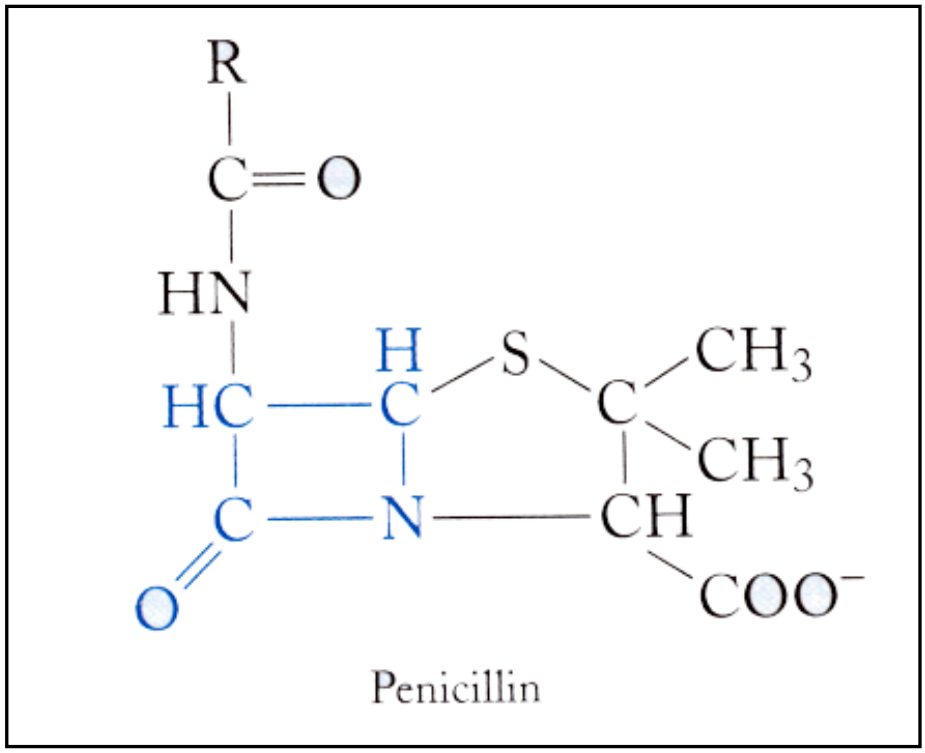
المرحلة الثانية : تتميز بالاستهلاك السريع لسكر اللاكتوز ، ولا يستخدم سكر اللاكتوز إلاّ بعد استهلاك الكميات الأخرى الموجودة من السكريات في وسط الإنتاج ، وتعد هذه المرحلة هي المرحلة الأساسية في إنتاج البنسيلين ، ومن اللازم هنا المحافظة على الرقم الهيدروجيني في حدود ٧ وأن تكون درجة حرارة التخمر ٢٥°م .

عند انتهاء عملية التخمر وإنتاج أكبر كمية من مضاد الحيوية تفصل خلايا الفطر عن وسط النمو باستخدام مرشحات كبيرة أو بواسطة الطرد المركزي ، ثم تجرى عملية استخلاص للبنسيلين من الراشح ويجب أن تتم هذه العملية تحت ظروف معقمة ودرجات حرارة منخفضة لحماية البنسيلين المنتج من التلف . وتتم عملية استخلاص البنسيلين باستخدام المذيبات المختلفة ، ثم يدمص على أسطح المواد الصلبة المناسبة للمضاد مثل الكربون المنشط أو بطرق الفصل الكروماتوغرافي يتم بعد ذلك بلورة البنسيلين تحت ظروف معينة ويعبأ على شكل كبسولات أو مسحوق أو حقن أو أقراص . ويوضح **شكل (٨)** خطوات إنتاج البنسيلين .



شكل (٨) : رسم تخطيطي يوضح خطوات إنتاج مضاد الحيوية البنسيلين .

يمكن بعد ذلك عن طريق بعض التفاعلات الكيميائية الحصول على أنواع مختلفة من البنسيلين وذلك بمعاملة البنسيلين الأساسي penicillin G ، **شكل (٩)** ونتيجة لهذه المعاملات التي تغير من تركيب وطول السلسلة الجانبية للبنسيلين الأساسي أمكن التوصل إلى مجموعة كبيرة من مضادات الحيوية كلها تابعة للبنسيلين ، وتتم هذه العملية لتفادي مشكلة تأقلم ومقاومة الجراثيم لمضادات الحيوية.



شكل (٩) : التركيب العام للبنسلين 6-aminopenicillic acid

إنتاج التتراسيكلين :

تمثل مضادات الحيوية التي تنتمي لمجموعة التتراسكيلين مجموعة متشابهة من مركبات ذات تأثير واسع النطاق broad spectrum antibiotics ، ويوضح **شكل (١٠)** تركيب التتراسيكلين . ولإنتاج الكلوروتتراسيكلين تستخدم سلالات مُطفرة من *Streptomyces aureofacieus* . ويمكن لكل السلالات المستخدمة في الصناعة استخدام الجلوكوز والسكروز والنشا

كمصدر للكربون ، كما يمكنها أيضاً استخدام النيتروجين من مصادر مختلفة تتضمن أملاح الأمونيوم ، النيترات واليوريا ، ومن أهم مصادر النيتروجين المستخدمة في الإنتاج الصناعي مستخلص منقوع الذرة ، مسحوق فول الصويا ومسحوق بذرة القطن . تتميز الطفرات التي تظهر أحسن الإنتاج من مضاد الحيوية بتكوين مستعمرات لونها أصفر مائل إلى البرتقالي وتكون قدرتها على تكوين الكونيدات معدومة ولها القدرة على استخدام أيونات الكلورايد والبرومايد ، حيث تنتج السلالات التي تستخدم الكلورايد كلوروتتراسيكلين في وسط النمو مع كميات ضئيلة من التتراسكيلين ، في حين تنتج السلالات التي تستخدم البرومايد بروموتتراسيكلين عوضاً عن الكلوروتتراسيكلين . وعند إضافة الكلورايد والبرومايد في وسط النمو فإن البرومايد يحبط من إنتاج الكلورايد وفي نفس الوقت لا يستخدم في إنتاج البروموتتراسيكلين وتكون النتيجة زيادة في إنتاج التتراسيكلين . وتعتمد نسبة إنتاج التتراسيكلين للكلوروتتراسيكلين على تركيز أيون الكلورين في وسط التخمر لذلك تعتمد بعض الصناعات التجارية للتتراسيكلين على التخلص من أيونات الكلورايد من وسط التخمر لتوجيه الإنتاج إلى التتراسيكلين ، ويمكن أن يصل إنتاج التتراسيكلين إلى ٩٠٪ من الإنتاج الكلي لمضادات الحيوية إذا أضيفت إلى وسط التخمر بعض المواد التي تعيق وتمنع التفاعل الخاص بتكوين الكلوروتتراسيكلين ومن هذه المواد وجود البرومايد أو الثيوسيانايت أو وجود أيّ مركب يحجز النحاس ويجعله في صورة غير حرة في وسط النمو حيث أن معدن النحاس أساسي في التفاعل الخاص بإضافة أيون الكلوريد في مركب الكلوروتتراسيكلين .

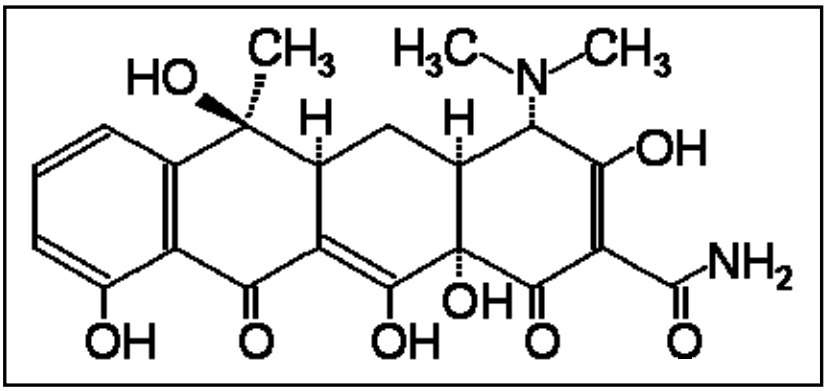
مصدر الكربون : تستخدم بعض المركبات الكربوهيدراتية مثل الجلوكوز ، اللاكتوز ، المالتوز والنشا ، ويجدر الذكر هنا أن بعض السلالات لا يمكنها تمثيل سكر السكروز .

الرقم الهيدروجيني : يراعى ضبط الرقم الهيدروجيني عند ٦,٦– ٦,٨ ليعطي بعد التعقيم وسط متعادل pH 7 . كما أن إضافة أملاح المغنيسيوم والكالسيوم تعمل على المحافظة على الرقم الهيدروجيني من خلال أيوناتها ، وتقلل من التأثير السام لمضاد الحيوي المنتج على السلالة المنتجة وذلك بتوفير احتياج المضاد لبعض العناصر الأساسية اللازمة له مما يقلل من سحبه لها وسط النمو .

الزيوت النباتية : تضاف الزيوت النباتية إلى وسط الإنتاج على دفعات خلال المراحل المختلفة من عملية التخمر ، ولهذه الخطوة أهمية حيث تحد من زيادة القلوية في وسط النمو كما تستخدم كمادة مضادة للرغاوي antifoam .

أيون الكلورايد والبرومايد : تؤثر نسبة أيون الكلورايد ووجود أيون البرومايد على نوع المضاد المنتج ونسبته ، حيث يمكن أن تتوجه التفاعلات إلى إنتاج التتراسيكلين ، الكلوروتتراسيكلين والبروموتتراسيكلين .

تركيز الفوسفات : يلعب الفوسفات دوراً حرجاً جداً في إنتاج أنواع التتراسيكلين فتركيز ٠,٠٣٪ يمكن أن يخفض إنتاج الكلوروتتراسيكلين بنسبة ٥٠٪ .



شكل (١٠) : التركيب العام للتتراسيكلين

إنتاج الستربتومايسين :

ينتج مضاد الحيوي ستربتومايسين ، **شكل(١١)** ، بواسطة النوع *Streptomyces griseus* وتحتاج لتنميتها إلى وسط غذائي يحتوي أساسا على الجلوكوز كمصدر للكربون حيث يعتمد التركيب الكيميائي للستربتومايسين على وجود الجلوكوز ، بالرغم من أن أنواع أخرى من السكريات يمكن أن تعطي نمواً جيداً .

مصدر الكربون : يستخدم الجلوكوز في الوسط الغذائي بتركيز ٢,٥٪ .

مصدر النيتروجين : يضاف المصدر النيتروجيني بتركيز محدد وبصفة مستمرة خلال تصنيع المنتج . كما يضاف مستخلص فول الصويا بنسبة ٤٪ .

أملاح معدنية : تضاف تركيزات منخفضة من الفوسفات غير العضوي ٠,٠٠٦ – ٠,٠٢٪ ، كما يضاف كلوريد الصوديوم بنسبة ٠,٢٥٪.

درجة الحرارة : تضبط درجة الحرارة عند ٢٧–٢٩°م .

الرقم الهيدروجيني : يضبط الرقم الهيدروجيني عند ٧–٨ .

التهوية : تتم عملية التخمر في ظروف هوائية .

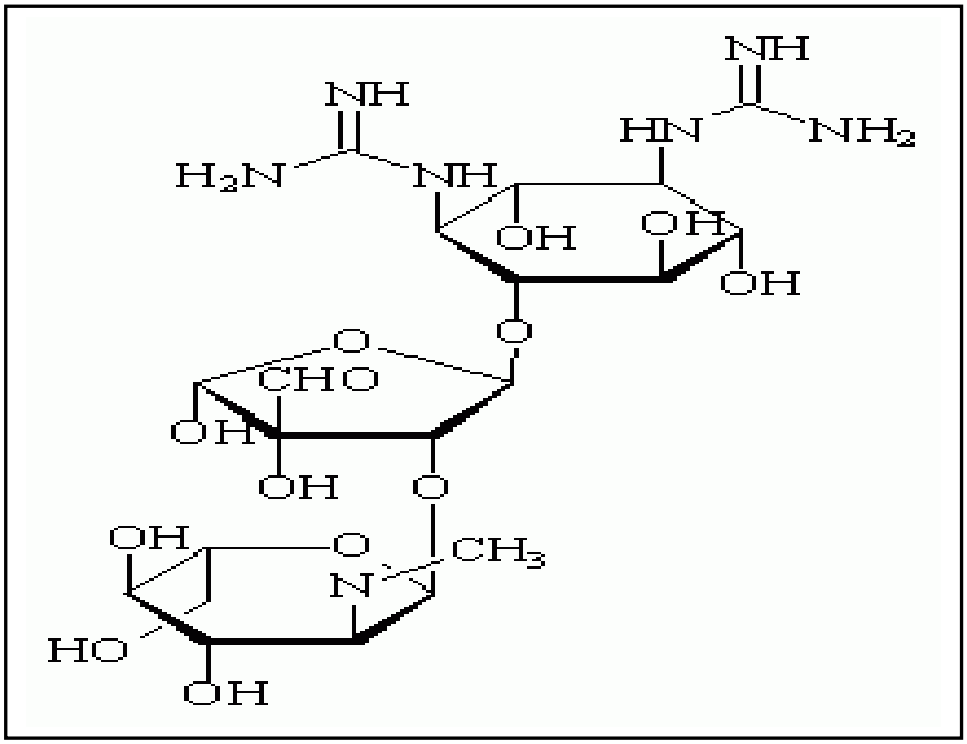
وتتم عملية التخمر على ثلاث مراحل :

المرحلة الأولى : تتميز بانطلاق الأمونيا من بروتينات فول الصويا مما يؤدي إلى ارتفاع الرقم الهيدروجيني من ٦,٧ إلى ٧,٦ خلال ٢٠ ساعة . ويلاحظ أن النمو الذي يصاحب هذه المرحلة مع استخدام الجلوكوز والنيتروجين يعمل على منع زيادة الارتفاع في الرقم الهيدروجيني .

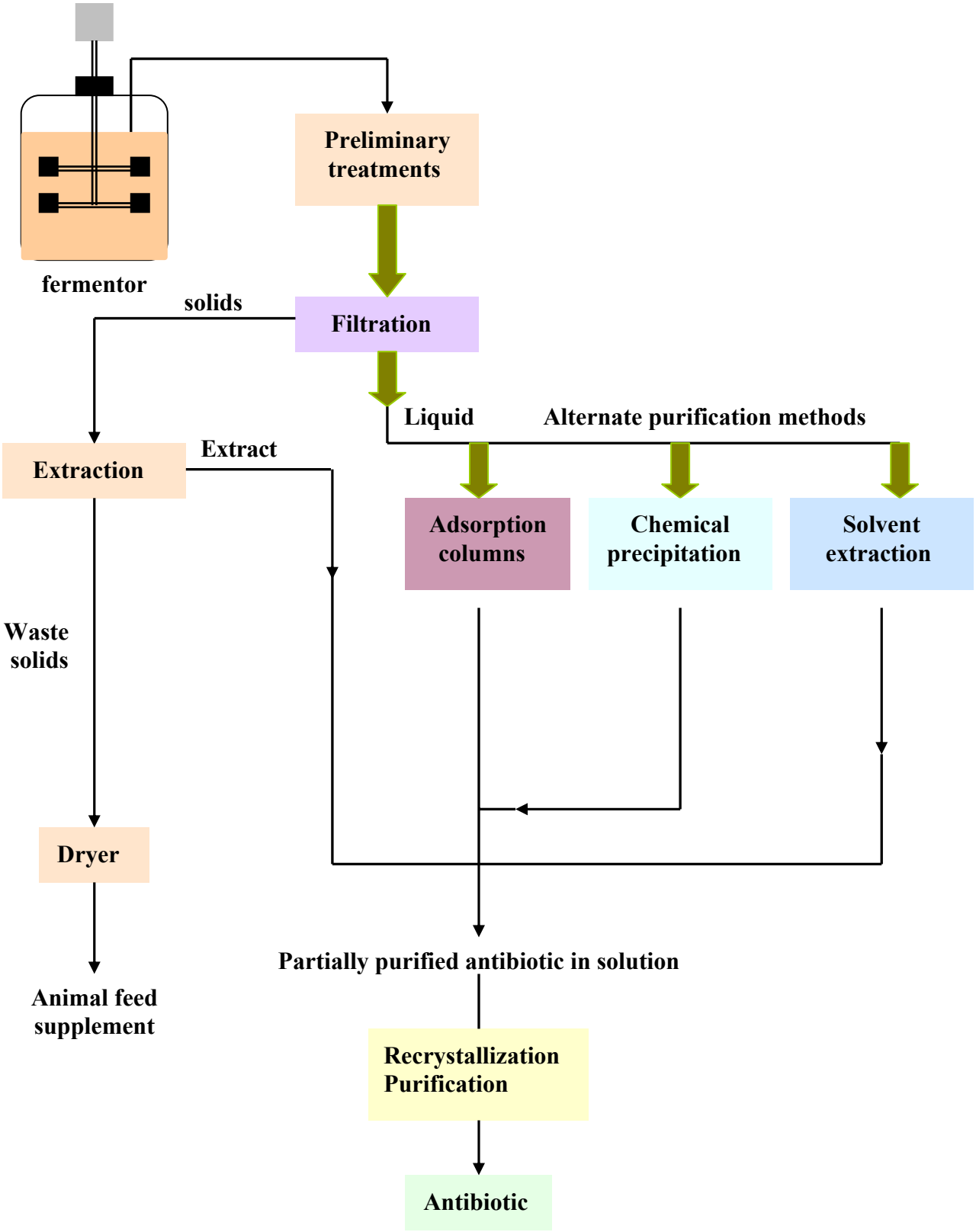
المرحلة الثانية : وهي مرحلة الإنتاج وتتميز بانخفاض بطئ في الرقم الهيدروجيني حتى يصل إلى القيمة ٦,٧ يصاحبه زيادة سريعة في كمية المضاد المتكون .

المرحلة الثالثة : ويتم فيها تحلل الميسيليوم وتوقف إنتاج المضاد وخروجه من الخلايا ، ويصاحب هذه المرحلة ارتفاع في الرقم الهيدروجيني ليصل إلى ٨–٨,٥ .

يتم بعد ذلك استخلاص الستربتوميسين من الوسط الغذائي كما تتم تنقيته ومن ثم يعبأ حسب الطلب في عبوات .



شكل (١١) : التركيب العام للاستربتومايسين .



شكل (١٢) : رسم تخطيطي يوضح طريقة تصنيع مضادات الحيوية للاستخدام البشري والحيواني .

إنتاج السموم البكتيرية
Production of toxoid

تفرز بعض أنواع البكتيريا مواد معينة كالتوكسينات أو تملك تراكيب خاصة كالكابسول لها علاقة بزيادة شدة العدوى . تسبب هذه المواد والتي تفرزها البكتيريا الأمراض للإنسان والحيوان مثل بكتيريا *Clostridium* sp. والتي تسبب مرض الغرغرينا من الجنس *Cl. welchii* والتيتانوس *Cl. tetani* والتسمم الغذائي *Cl. botulinum* ، حيث تفرز هذه الأنواع سموم خارجية عبارة عن بروتينات ، وتتأثر هذه البروتينات بالإنزيمات المحللة للبروتينات حيث تعمل على تحللها ويستثنى من ذلك السم البوتشوليني والعنقودي ، وبذلك فإن السموم الأخرى لا تؤثر على الجسم إذا أخذت عن طريق الفم .كما تفقد السموم الخارجية سميتها بالتخزين الطويل ، أو بتعريضها للحرارة التي تصل إلى حوالي ٧٠°م ، أو بمعاملتها ببعض المواد الكيميائية كالفينول ، الأحماض والفورمالدهيد والتي تعمل على تثبيط عمل بعض الأحماض الأمينية الداخلة في تكوينها البروتيني . وعند معاملة التوكسين بالفورمالدهيد فإنه يفقد سميته ويتحول إلى ما يسمى توكسويد toxoid والذي له خواص أنتيجينية يمكن استخدامها كأنتيجن للوقاية من الإصابة بالتسمم الميكروبي مثل الدفتيريا والتيتانوس ، وذلك لأن التوكسويد يحفز الجسم على إنتاج مضادات التوكسين antitoxins التي تعادل السم الميكروبي المتكون بجسم العائل .

ويلزم لإنتاج التوكسويد إنتاج كمية كبيرة من السم البكتيري ويتم ذلك صناعياً بواسطة عمليات التخمر اللاهوائية .

إنتاج toxoid :

الوسط الغذائي : الأوساط الملائمة لنمو البكتيريا تحتوي على بروتين متحلل بالإضافة إلى مواد كيميائية صناعية ، ويضاف الوسط الغذائي نصف الصناعي بكمية متزايدة لتسهيل عملية فصل وتنقية السم .

الرقم الهيدروجيني : يضبط الرقم الهيدروجيني عند درجة ٧ .

الكائن الدقيق : يتم اختيار السلالة المناسبة ذات الإنتاج العالي من السم والتي تتبع الجنس *Clostridium* sp. ، إضافة إلى نوع السم المراد إنتاجه . وينقل اللقاح إلى المخمر وهو في أقصى مراحل النمو .

التهوية : بكتيريا *Clostridium* sp. بكتيريا لا هوائية إجبارية لذلك لابد من أن تكون ظروف التخمر لا هوائية ، ولذلك تستخدم المزرعة المغمورة ، ويراعى تمرير غاز النيتروجين المعقم إلى المخمر لإتاحة الظروف اللاهوائية .

درجة الحرارة : تضبط درجة الحرارة عند ٣٧°م ، ويمكن تقليب الوسط بدرجة خفيفة وذلك للمحافظة على درجة الحرارة .

تتم عملية التخمر عدة أيام قد تصل إلى ٦ أيام في حالة *Cl. tetani* . وأثناء عملية التخمر تؤخذ عينات من وسط النمو للكشف عن تركيز السم وذلك بمعادلته بمضاد السم الخاص به ، ويتم ذلك بشكل دوري . بعد انتهاء عملية التخمر يتم استخلاص السم بفصل الخلايا البكتيرية باستخدام عمليات الطرد المركزي ، ثم يجمع المحلول الرائق ويرشح للتخلص من باقي الخلايا العالقة ويحول السم بعد ذلك إلى توكسويد بإبطال سميته عن معاملته بالفورمالين ، ويتم الكشف على التوكسويد باختباره على حيوانات التجارب للتأكد من عدم سميته .ولابد من التخلص من البروتينات المتبقية والمتعلقة بالتوكسويد فقد تسبب تفاعلات غير مرغوبة للمريض ، ويتم ذلك بعملية ترسيب جزيئي باستخدام كبريتات الأمونيوم عند درجة ٤°م ، ثم يجمع التوكسويد المترسب ويعاد إذابته في محلول ملحي محايد يتبع ذلك تنقيته من كبريتات الأمونيوم باستخدام غشاء فارز dialysis عند درجة ٤°م . يعقم المحلول باستخدام المرشحات البكتيرية ثم يخفف بمحلول ملحي محايد للوصول إلى درجة التركيز المطلوبة ، ويمكن إضافة هيدروكسيد الألومنيوم إلى التوكسويد الناتج لتقوية قدرته على حث الخلايا على تكوين الأجسام المضادة antitoxin .

إنتاج الأنسولين
Product of insulin

تعزى الإصابة ببعض الأمراض البشرية إلى وجود نقص في بروتين وظيفي مهم أو حدوث خمول وظيفي لهذا البروتين ، ومثال ذلك مرض السكري diabetes الذي ينشأ من نقص في كمية الأنسولين الذي تفرزه خلايا جزر لانجرهانس في البنكرياس ، ويعمل الأنسولين على السيطرة على مستوى سكر الجلوكوز في الدم ويبقيه في المستوى الطبيعي . ويلجأ مرضى السكري إلى حقن الأنسولين في مجرى الدم لتعويض الكمية الناقصة منه ، ومعظم الأنسولين المستخدم في هذه الحالة هو أنسولين غير بشري يأتي من خلال استخلاصه من بنكرياس بعض الحيوانات مثل الخنازير والأبقار ،حيث يعتبر هذا الأنسولين هرمون مناسب للاستخدام البشري ولكن يمكن أن ينشأ من استخدامه مشاكل مختلفة لبعض المرضى ، تأتي من الاختلاف بين تركيب الأنسولين البشري والحيواني مما يؤدي إلى ردة فعل مناعية ضد الأنسولين الحيواني إضافة إلى أنه غير نقي ويمكن أن يحتوي على مواد ملوثة بيولوجية خطرة لا يمكن إزالتها تماماً كما في الفيروسات ، لذلك فإن أفضل طريقة لتجنب مثل هذه المشاكل هو استخدام الأنسولين البشري وحيث أنه لا يمكن الحصول عليه لذلك تم استخدام الهندسة الوراثية لإنتاجه في أحياء دقيقة مثل البكتيريا .

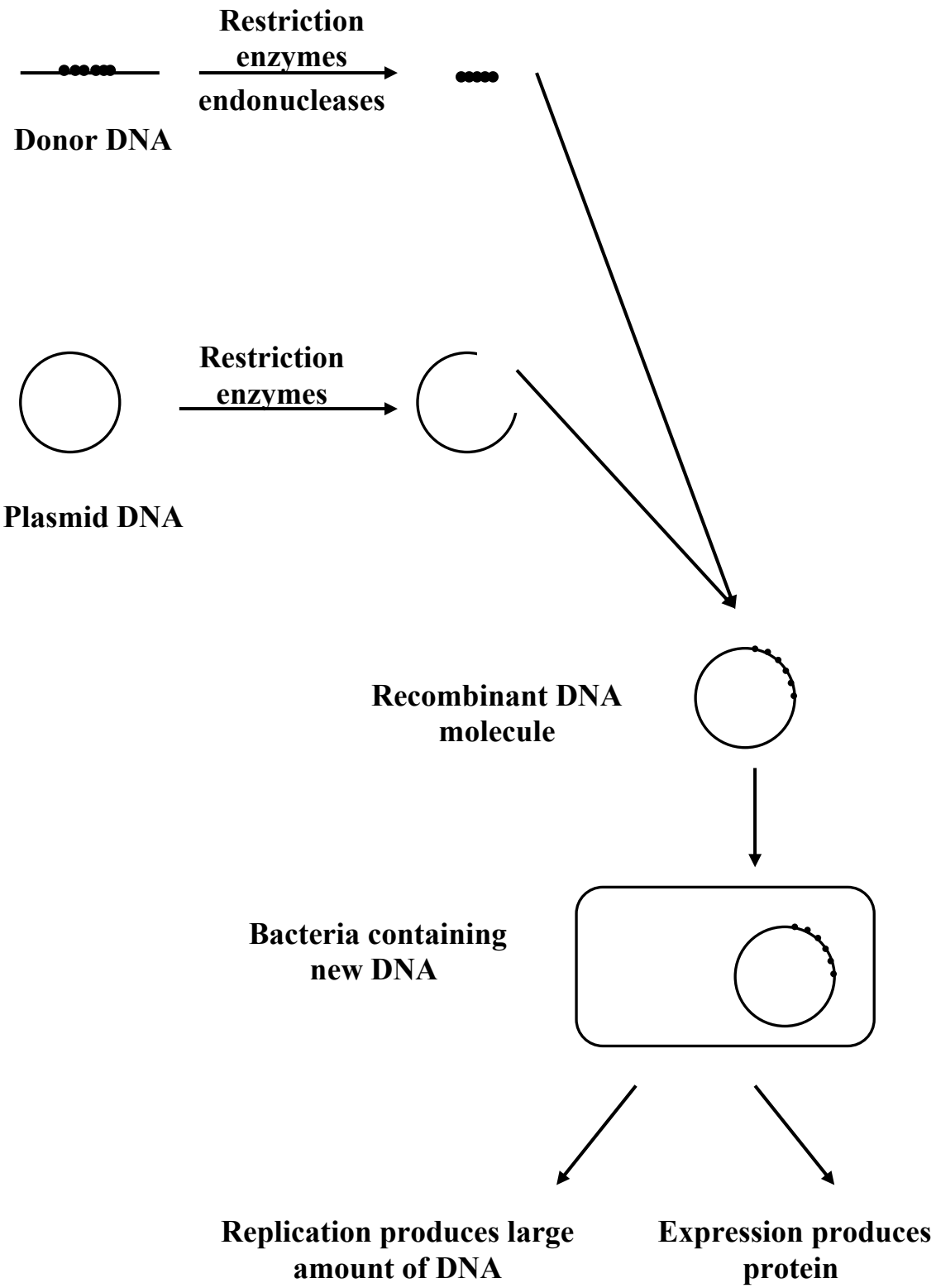
الأنسولين أحد المنتجات الدوائية التي يمكن إنتاجها صناعياً بواسطة أنواع من البكتيريا *E. coli* ، وتتطلب خطوات الإنتاج ما يلي :

١. **إنتاج الجين الخاص بالصفة الوراثية المطلوبة :** يمكن عزل الحمض النووي المحتوي على الجين الخاص بإنتاج الأنسولين من الخلايا ، ويستخدم لذلك أحد الإنزيمات القاطعة restriction enzymes وهي إنزيمات متخصصة في تقطيع سلاسل الحامض النووي من مواقع معينة تختلف باختلاف الإنزيم المستخدم ، وفي هذه العملية يتم قطع خلايا الحمض النووي إلى أجزاء معينة بحيث تظهر نهايات الحمض النووي متطابقة ومتجانسة ، وبعد تعيين موقع الحمض النووي الذي يحمل الصفة الوراثية المطلوبة يُربط مع ناقل مناسب . والنواقل هي جزيئات حامض نووي DNA قصيرة في الغالب دائرية وقادرة على التضاعف المستقل عن الخلية أو معها ، وأفضل النواقل المعروفة والمستخدمة في الهندسة الوراثية البلازميدات مثل RP_4 والفيروسات مثل لامبدا λ والكوزميدات مثل PJB8 ، وتحتوي هذه النواقل على مورثات معينة تسمح بالتعرف عليها في حالة وجودها في خلايا مضيف معين ويمكن أن تكون هذه المورثات طبيعية مثل مقاومة مضادات الحيوية الموجودة في البلازميد أو يمكن

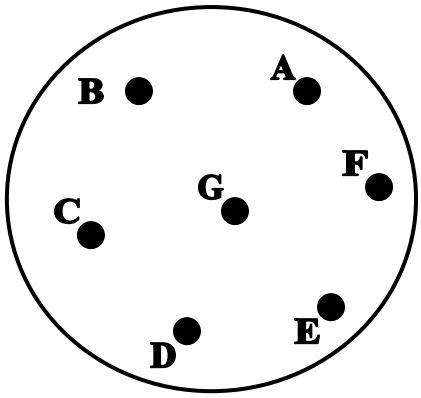
زراعتها في الناقل ، ولزراعة جزئ الحامض النووي أو المورث في الناقل فلابد من فتح الناقل بنفس إنزيم القطع المستخدم في تقطيع الحامض النووي لجين الصفة الوراثية المطلوبة ، ومن ثم يمكن وصل الأجزاء باستخدام إنزيم اللحام DNA-ligase ، **شكل (١٣)** وهنا أصبح الناقل الهجين جاهز للخطوة التالية .

٢. **إدخال الناقل الهجيني إلى المضيف :** يدمج الجين الوراثي المحتوي على صفة إنتاج الأنسولين في جزئ الحمض النووي أو بلازميد بكتيريا *E. coli* مثلاً ، تتم هذه الخطوة بواسطة التحول transformation حيث تعامل خلايا المضيف (البكتيريا) بمحاليل ملحية عند درجات حرارة منخفضة لزيادة نفاذية جدرانها ، ثم مزج الخلايا المؤهلة للتحول competent cell مع محلول الناقل الهجين بهدف توفير الظروف المناسبة لدخوله إلى الخلايا، ومن ثم زراعة الخلايا على وسط غذائي انتخابي مناسب .

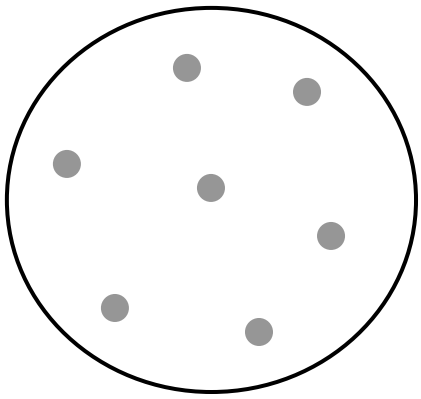
٣. **الكشف عن تعبير المورث الجديد (إنتاج الأنسولين) :** تتضمن هذه المرحلة التأكد من نجاح المورث (إنتاج الأنسولين) في التعبير عن نفسه في الخلايا المضيفة ، وهذه المرحلة ضرورية للتأكد من عمل المورث وإلاّ تصبح عملية الهندسة برمتها غير مجدية ، ويمكن الكشف عن تعبير المورثات الجديدة من خلال استخدام كواشف كيميائية أو مناعية كفيلة بإعطاء نتيجة ذلك ، وتعتبر الطرق المناعية الأكثر استخداماً لذلك .ويتم في ذلك نقل المستعمرات البكتيرية المتحولة إلى ورق ترشيح ثم تعريضه إلى بخار الكلوروفورم لأجل تحليل الخلايا وإطلاق البروتينات ، فمثلاً يعبر البروتين A على مورث إنتاج البنسلين لذلك يستخدم مضاد مناعي للبروتين A وموسّم إشعاعياً بنظير اليود مثلا وبالتالي عند غمس ورقة الترشيح مع محلول المضاد المناعي الموسّم فإنه في حالة وجود البروتين A في أيّ مستعمرة من المنقولة على ورقة الترشيح فإن المضاد المناعي سيلتصق معه لتكوين معقد مشع ، ثم تغسل ورقة الترشيح لإزالة المواد المناعية الزائدة وتغطى بفلم حساس وتحفظ لفترة أسبوع أو أكثر حيث تظهر المستعمرات التي تحتوي البروتين A سوداء اللون على الفلم بينما لا يظهر أثر للمستعمرات التي فشلت في التعبير على المورث (إنتاج البنسلين) ، **شكل (١٤)** .



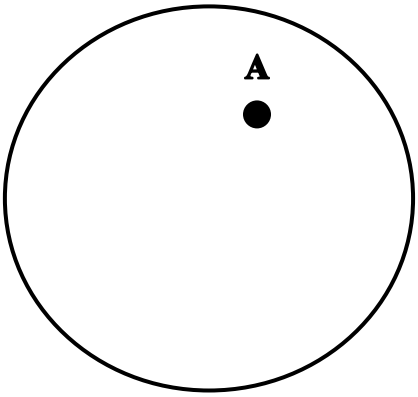
شكل (١٣) : خطوات تهجين الجين الخاص بصفة الإنتاج في الحمض النووي للناقل ومن ثم إدخاله إلى الخلية المضيفة



الخطوة (١) : مستعمرات البكتيريا على الوسط الغذائي



الخطوة (٢) : نقل المستعمرات إلى ورق خاص وتعريضه لبخار الكلوروفورم بهدف تحليل المستعمرات وإطلاق بروتينها ومن ثم تهجينها مع مضاد مناعي موسم باليود



الخطوة (٣) : الكشف عن تعبير المورث (البنسلين) عن طريق التهجين المناعي والإشارة الموجبة تمثل منطقة ارتباط المجس المناعي مع البروتين الخاص بالمورث الجديد

شكل (١٤) : الخطوات المتبعة في الكشف عن تعبير المورث (البنسيلين)

المناعة والأجسام المضادة
Immunity and Antibodies

يوجد بالوسط المحيط بالإنسان أعداد وفيرة من الكائنات الدقيقة بعض منها يقطن الجسم ويكون ما يعرف بالفلورا الطبيعية normal flora وهذا المحتوى خليط من الكائنات الدقيقة أغلبها بكتيريا . وتقطن الكائنات الدقيقة الجلد والأسطح الداخلية للجسم مثل الأغشية المخاطية لتجويف الفم ، الجهاز التنفسي العلوي ، الجهاز الهضمي و الجهاز التناسلي ويتأقلم كثير من تلك الكائنات الدقيقة على الحياة في هذه الأجزاء من الجسم . وقد تتحول بعض الكائنات الدقيقة الموجودة طبيعياً بالجسم إلى كائنات دقيقة مرضية وذلك إما بسبب حدوث إصابة بالنسيج الذي تعيش فيه أو ضعف في مقاومة الجسم للعدوى الناتجة من الميكروبات الموجودة طبيعياً في الجسم . ولهذه الفلورا الطبيعية فوائد نذكر منها :

١. تستطيع استخدام الفضلات والتغذية عليها فتقلل بذلك من ضرر تراكمها بالجسم ، كما يحدث مع كثير من بكتيريا الأمعاء فهذه الميكروبات بطبيعتها كانسة للفضلات scavengers .
٢. تستطيع كثير من بكتيريا الأمعاء تكوين فيتامينات مثل B,E,K وبذلك تسد جزءاً كبيراً من احتياجات الجسم من هذه الفيتامينات .
٣. بعض الكائنات الدقيقة الطبيعية بالجسم لها القدرة على تثبيط نمو بعض الميكروبات الأخرى ومنها المرضية وبذلك فهي تعمل على حماية الجسم من الأمراض ويتم ذلك بوسائل عديدة منها موت الميكروب الضار لعدم قدرته على المنافسة في الحصول على الغذاء ، أو تكوين الكائنات الدقيقة الطبيعية لمضادات حيوية ونواتج تمثيلية مضادة للميكروبات الضارة .

العلاقة بين العائل والميكروب الممرض :

يطلق على الأمراض التي تسببها ميكروبات أمراض معدية infectious diseases ، وفي هذه الحالة يحدث المرض نتيجة عدوى ميكروبية microbial infection من ميكروب ممرض pathogen كالبكتيريا وتعرف استجابة العائل للعدوى بالمرض disease ، والمرض هو تغير يحدث بالجسم يحوله عن حالته الطبيعية قد يكون ذلك التغير في التركيب أو الوظيفة ومظهر هذا التغير على العائل هي أعراض المرض symptoms . ويحدث المرض وتظهر أعراضه كنتيجة للعلاقات المتبادلة بين الميكروب الممرض والعائل القابل للإصابة ، فالمرض الناتج من العدوى الميكروبية لا يتحدد بخواص الميكروب الممرض فقط بل وبعلاقته مع العائل وقدرة العائل على مقاومته ، فقد يهاجم الميكروب العائل ولكن لا تظهر عليه أعراض المرض فيسمى حامل للميكروب carrier حيث يحمل الميكروب المعدي وينقله إلى الشخص القابل للإصابة ، وقد يحدث المرض على سطح الجسم ، أو يدخل إلى الأنسجة الداخلية ويهاجمها فيسبب تلفها أو إخلال بوظائفها الفسيولوجية ، وقد تكون الإصابة موضعية ، عامة ، حادة أو مزمنة .

العدوى infection :

تهاجم أنواع من الكائنات الدقيقة العائل وتعيش متطفلة parasite عليه مسببة له بعض الأمراض المعدية ، وتحدث الأمراض نتيجة للعدوى والعدوى هي غزو للميكروب لجسم العائل وحدوث المرض حيث يحدث المرض عندما يدخل الميكروب الجسم ويصل إلى الأنسجة ويتكاثر بها ويتغلب على أجهزة العائل الدفاعية ويسبب تلف الخلايا .وبذلك فإنه تحدث معركة بين الميكروب والعائل عقب غزو الميكروب لجسم العائل ويحدد مصير العدوى نتيجة معركة بين شدة عدوى الميكروب virulence ومقاومة جسم العائل resistance فإذا انتصر الميكروب بنشاطه حدث المرض وإذا انتصر الجسم بمقاومة أجهزته الدفاعية لا يحدث المرض وسمى الجسم منيعاً أو مقاوماً . تختلف العدوى في شدتها تبعاً لنشاط الميكروب ومقاومة العائل كما تختلف باختلاف مسببها وتختلف في موقعها فقد تكون موضعية في منطقة محددة بالجسم أو عامة منتشرة بالجسم . وتأخذ العدوى والإصابة عدة صور منها :

١. بعض أنواع الميكروبات الممرضة مثل بكتيريا التيتانوس تبقى في موضعها عقب العدوى ، وترسل سمومها لكل الجسم من خلال الدم والجهاز اللمفاوي وبذلك تؤثر على باقي أنسجة الجسم وتسمى هذه الحالة toxemia .
٢. بعض أنواع تتكاثر وتنتشر مباشرة من خلال الدم واللمف وتصل إلى الأنسجة الأخرى وتصيبها مثل بكتيريا الالتهاب السحائي ، وتسمى هذه الحالة bacteremia .

٣. بكتيريا مثل بكتيريا الحمى الفحمية شديدة العدوى تنتشر وتتكاثر بنشاط في مجرى الدم مسببة العدوى وتسمى تلوث الدم septicemia .

٤. قد تثير البكتيريا خلايا العائل كما في السعال الديكي فتفرز الخلايا مادة كالهستامين أو مواد مشابهة تسبب للعائل حالة حساسية شديدة أو فرط حساسية allergy .

المقاومة والمناعة :

تعرف قدرة الجسم على إيقاف نمو الميكروب الممرض ومنع حدوث العدوى بالمقاومة resistance ويوجد نوعان رئيسيان من المقاومة مقاومة غير متخصصة non-specific resistance ومقاومة متخصصة specific resistance ، والمقاومة غير المتخصصة تعرف بالمقاومة الطبيعية natural resistance وهي مقاومة عامة غير متخصصة لمقاومة ميكروب معين وتوفرها مجموعة من عوامل الدفاع الموروثة مثل الخلايا الملتقمة ، خلايا اللمف الطبيعية غير المتخصصة والإنترفيرون والعامل المكمل .

أما المقاومة المتخصصة فتعرف بالمناعة immunity فهي متخصصة في مقاومة ميكروب معين وتفرها عوامل معنية مثل الأجسام المضادة التي تتفاعل بتخصص مع ميكروب معين ، وعند حدوث العدوى فإن كلاً من أجهزة المقاومة الطبيعية والمتخصصة يعملان معاً لمقاومة الميكروب المهاجم والتغلب عليه .ومن **أمثلة الأجهزة الدفاعية في الجسم :**

- **الالتهاب Inflammation :**

عندما يخترق الميكروب أو أيّ جسم غريب الأغشية السطحية للجسم فإنه يسبب حول مكان الدخول التهاباً .والالتهاب مجموعة من العمليات المعقدة تحدث في المكان المخترق ، ولها أربع علامات مميزة هي الاحمرار reddening ، الحرارة الخفيفة heat ، الانتفاخ swelling ثم الألم (في الغالب) pain . وتظهر هذه العلامات المميزة للالتهاب نتيجة لزيادة تدفق الدم في مكان الإصابة وزيادة النشاط الإنزيمي وإفراز أنسجة العائل وبلازما الدم بعض المواد التي تحفز حدوث الالتهاب ومقاومة التوكسينات التي يفرزها الميكروب ، حيث يزداد تدفق الخلايا المدافعة بالدم ويزداد تركيزها حول الجزء المصاب . وقد يكون الالتهاب حادا وينتهي ذاتيا بعد فترة قصيرة أو يكون مزمنا . ويسمى السائل الناتج من الالتهاب بالصديد pus ويتكون من السيروم ، اللمف ، الميكروب ، الخلايا الحية والميتة وكرات الدم البيضاء .يلعب الالتهاب دوراً في عملية المقاومة فمن خلالها يتم محاصرة الميكروب المهاجم في مكان دخوله ومحاولة التخلص منه فإذا نجح الميكروب في الهروب من خلال الأوعية الدموية أو اللمفاوية فإنه سيقابل الخلايا الملتقمة المتخصصة .

- **الإلتقام والبلعمة Phagocytosis :**

تلعب الخلايا الملتقمة ، الملتهمة والبلعميات دوراً هاماً في مقاومة الميكروب المهاجم وحماية الجسم من العدوى ويوجد نوعين من الخلايا الملتقمة :

١. كرات الدم البيضاء المحببة مفصصة النواة poly morpho nuclear granulocytes وتمثل الخط الأمامي من خطوط الدفاع الداخلية ، تنتج في نخاع العظام وتنتشر بأعداد كبيرة في الدم وتتجه لأماكن الالتهاب لتؤدي مهمتها وتعيش بالدم لعدة أيام فقط ثم تموت ويحل محلها خلايا أخرى جديدة ناتجة من نخاع العظم . تحتوي كرات الدم البيضاء المحببة على عدد كبير من الإنزيمات والمواد المضادة للميكروبات التي تحلل بها الميكروبات وتقتلها وتوجد هذه المواد في جسيمات محاطة بغشاء تسمى lysosome .

٢. الملتقمات (البلعميات) الكبيرة macrophages وتنتج من كرات الدم البيضاء وحيدة النواة monocytes وتنتج من نخاع العظام . والملتقمات الكبيرة عكس الخلايا البيضاء المحببة تعيش بالأنسجة مدة أطول تصل لأسابيع وأشهر وهي منتشرة بكل الجسم ولكن بأعداد أقل من الخلايا المحببة وتحتوي الملتقمات الكبيرة مثل الكرات البيضاء المحببة على اليسوسومات التي يوجد بها المواد المحللة للميكروبات .

- **نظام المكمل Complement system :**

المكمل إحدى عشر نوعاً ويرمز لكل منها بالرمز C مع إعطاء الرقم أو الرمز المناسب لكل نوع مثل C_1, C_2 . . . الخ ، وجميعها ينتمي من حيث التركيب الكيميائي إلى البروتينات . ويوجد المكمل طبيعياً في سيروم الدم وهو حساس للحرارة وغير متخصص في تفاعلاته وسمي بالمكمل لأن له تأثير مكمل على بعض التفاعلات المناعية الخاصة بالأجسام المضادة وتتضمن هذه التفاعلات تسهيل عملية الإلتقام وزيادة التجاذب الكيميائي وتسهيل تحلل الخلايا .وتحتاج تفاعلات المكمل في عملها المناعي إلى وجود ثلاث مكونات بالدم هي الأنتجن والجسم المضاد والمكمل نفسه .

- **الإنترفيرونات Interferons :**

الإنترفيرونات عدة أنواع كلها بروتينات ذات وزن جزيئي صغير تنتجها خلية العائل نتيجة للإصابة بالفيروس . والإنترفيرون عامل مضاد للفيروس ولكن بدون تخصص لفيروس معين non-specific antiviral agent وهو متخصص لخلايا نوع العائل الذي أنتجته cell-specific species . يسبب الإنترفيرون زيادة في مقاومة العائل بطريقة غير مباشرة فهو لا يتحد مباشرة بالفيروس ولكنه

يحث خلية العائل على تكوين بروتين مضاد للفيروسات الأخرى المهاجمة والبروتينات المضادة المتكونة تمنع تضاعف الفيروسات المهاجمة داخل خلايا العائل نتيجة لتثبيطها للنظام الخاص بتمثيل الحامض النووي للفيروس .

- **المناعة Immunity :**

المناعة هي أحدى صور مقاومة الجسم لمنع حدوث العدوى وتحديداً فهي مقاومة العائل الطبيعية أو المكتسبة ضد مرض معين وتشمل الاستجابة المناعية للمواد الأنتيجينية غير السامة وغير المعدية مثل حبوب اللقاح وبعض الكيماويات .وتتم المناعة بطريقتين :

١. **طبيعية أو موروثة Natural or Inherited** وتوجد طبيعياً بجسم العائل وهو يختلف باختلاف النوع والسلالة والأفراد ففيروس الحصبة معدي للإنسان ولكنه غير معدي للحيوان ، وزنوج أمريكا أكثر مقاومة للملاريا والحمى الصفراء من الأمريكيين البيض . وتعود المناعة الطبيعية إلى خواص العائل الوراثية وإلى الاختلافات الموجودة بين الأنسجة في الأنواع المختلفة .
٢. **مكتسبة Acquired** وهي إما أن تتم بطريقة عرضية accidental وتسمى مناعة مكتسبة عرضاً كما يحدث عقب الإصابة مثلاً بالحصبة أو الحمى القرمزية أو التيفود فعقب الشفاء من هذه الأمراض يكون قد اكتسب مناعة ضدها تحميه من الإصابة بها مرة ثانية إما مدى الحياة أو لفترة محدودة . أو قد تتم المناعة المكتسبة بطريقة اصطناعية وتسمى **مناعة مكتسبة اصطناعياً Artificial ويتم ذلك بواسطة :**

- **اللقاح (الفاكسين) vaccine** وهي الأحياء الدقيقة الممرضة بعد قتلها أو إضعافها إلى درجة لا يمكن معها إحداث المرض ، ويتم بالتلقيح باللقاح المناسب وتسمى المناعة الناتجة **مناعة فعالة أو نشطة Active immunity** كما في حالة التلقيح ضد التيفود ، الكوليرا ، الجدري أو الدفتيريا . وقد تستمر المناعة النشطة قد تستمر لمدة طويلة كما في حالة الجدري أو تبقى لمدة قصيرة كما في حالة الانفلونزا .وفي حالة المناعة النشطة يكون الجسم أجسامه المضادة عقب الحث الأنتيجيني ولذلك تمر فترة بعد أخذ اللقاح حتى تتمكن خلايا الجسم خلالها من تكوين الأجسام المناعية بكمية كافية للحماية من المرض ولهذا فإن طريقة المناعة النشطة تفيد كثيراً في الوقاية من المرض قبل ظهور أعراضه على الجسم.
- **المصل Serum** ويتم فيها نقل الأجسام المضادة السابق تحضيرها من بعض الحيوانات بعد حقنها بسلالات ضعيفة أو ميتة من الميكروب الممرض ومن ثم يتم فصل خلايا الدم والحصول على البلازما بسيروم الدم أو بخلايا الليمفويد ونقلها إلى الشخص المعنى وتسمى المناعة الناتجة مناعة منقولة

passive immunity كما في حالة استخدام السيروم المضاد ضد توكسين التتانوس . وتنتقل الأجسام المضادة المجهزة من الأم إلى الجنين أثناء الحمل عن طريق الدورة الدموية ومن الأم إلى المولود الجديد بالرضاعة الطبيعية لذلك نجد المولد الجديد منيع ضد بعض الأمراض كالدفتيريا إلى عمر ٦ أشهر. وتزود المناعة المنقولة الجسم بالأجسام المضادة مباشرة لذلك فهي تستخدم للعلاج بعد ظهور أعراض المرض ، وتستمر لمدة قصيرة تصل إلى حوالي ٣–٤ أسابيع تتناقص بعدها تدريجياً إلى أن تزول، حيث أنها غريبة عن الجسم ولم تنتجها الخلايا الدفاعية بالجسم وذلك بعكس المناعة المنقولة من الأم إلى الجنين فهي تستمر لفترة أطول نسبياً وبعضها يستمر مدى الحياة .

الأنتجن والأجسام المضادة Antigens and Antibodies :

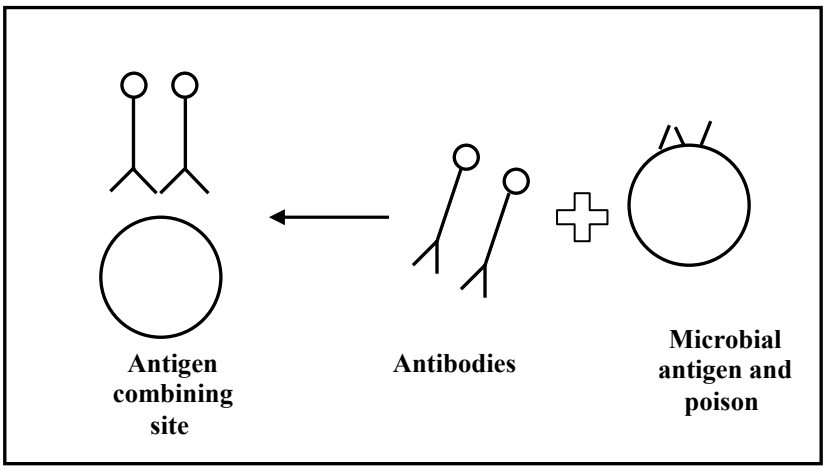
الأساس في المناعة المكتسبة هي قدرة النظام المناعي للعائل على التعرف والتمييز بين الخلايا والمواد المناعية الخاصة بذات العائل أيّ مصدرها العائل وبين المواد التي ليس هو مصدرها مثل حبوب اللقاح ، الخلايا الخاصة بحيوانات أخرى ، الميكروبات ، التوكسينات واللقاحات وهذه المواد إذا ما دخلت الجسم فإنها تعتبر مواد غريبة عنه وتسمى أنتجينات .

- **الأنتجن Antigen :**

لكي يكون للمادة خواص أنتجينية فإنها يجب أن تكون مادة غريبة عن الجسم ، ذات وزن جزيئي مرتفع ، لها أكثر من مجموعة محددة لعملها وقابلة للذوبان في بلازما الدم حتى تصل إلى مراكز تكوين الأجسام المضادة بالجسم .بعض الأنتجنات سكريات معقدة ولكن أغلب أنواعها بروتينات وليس لكل البروتينات خواص أنتجينية ، وقد يكون الأنتجن مادة ذائبة كالتوسينات البكتيرية وقد يكون جزيئات كالفيروسات وخلايا البكتيريا وعادة فإن الأنتجينات التي على صورة جزيئات أكبر تأثيراً من الناحية المناعية من الأنتجن الذائب .

يوجد على سطح الأنتجن وأحياناً بداخله مجموعة أو أكثر من مراكز التفاعل تسمى محددات عمل الأنتجن وسميت كذلك لأنها تحدد تخصص الأنتجن **شكل (١٥)** ، ويختلف عدد المحددات بين أنتجن وآخر ففي بعضها يصل العدد إلى ألف أو أكثر وفي بعضها لا يزيد عددها عن اثنين. وهذه المحددات هي أماكن تفاعل الأنتجن مع الجسم المضاد . ورغم أن أغلب الأنتجينات متخصصة في تفاعلاتها إلاّ أن بعضها قادر على تكوين أجسام مضادة تتفاعل مع خلايا وأنسجة كائنات عديدة وتسمى أنتجينات خليطة الألفة

heterophilic antigens ومن أمثلتها أنتيجينات فورسمان Forssman group of antigens التي توجد في كثير من أنواع البكتيريا ، النبات والحيوان .



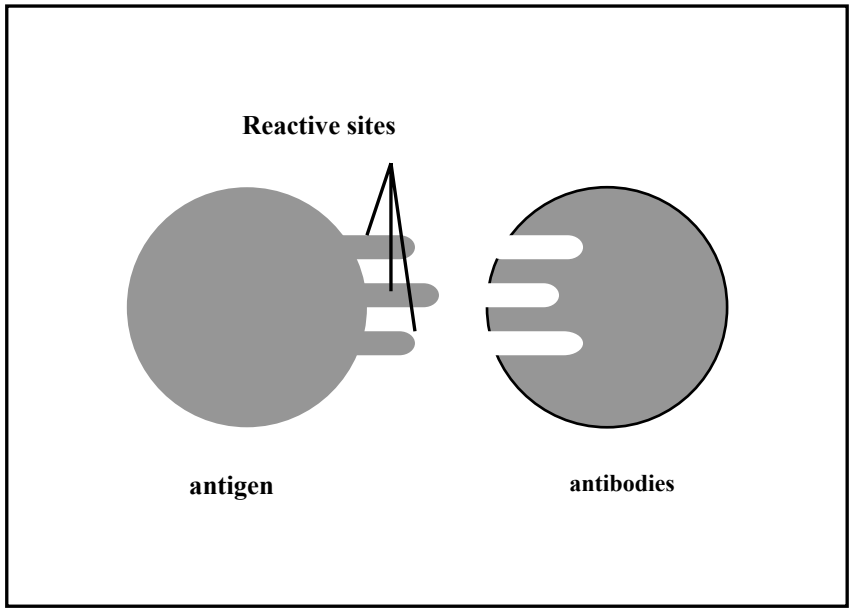
شكل (١٥) : شكل تخطيطي يوضح اتحاد الجسم المضاد مع الأنتجين بمراكز الاستقبال المتخصصة

اللقحات Vaccines : تحضر اللقحات من الأنتيجينات فاللقحات هي معلقات مزرعية من ميكروبات مقتولة أو من ميكروبات موهنة أيّ ذات قدرة مخففة للعدوى أو من نواتج للميكروب كالسموم .وتستعمل اللقحات كأنتجينات لإنتاج مناعة بالعائل ضد ميكروب معين مثال على ذلك استخدام لقاح بكتيريا التيفود الذي يتكون من خلايا بكتيريا *Salmonella typhi* المقتولة واستخدام مضادات السموم وكذلك لقاحات التوكسيد .وقد يحضر اللقاح من نوع واحد من الميكروب ، وقد يحضر من أكثر من نوع من الميكروب وهذا يسمى لقاح مختلط mixed vaccine مثل لقاح بكتيريا السعال الديكي مع توكسويد الدفتيريا والتتانوس ، وقد يحضر اللقاح من عدة سلالات لنوع واحد من الميكروبات مثل لقاح البكتيريا السبحية ويسمى هذا النوع لقاح متعدد التكافؤ polyvalent vaccine . وعادة ما تحضر اللقحات بالمعمل من مزارع مخزنة stock cultures لإنتاج لقاحات مخزنة stock vaccines .

- **الأجسام المضادة Antibodies :**

الأجسام المضادة هي جزيئات بروتينية متخصصة يكونها الجسم استجابة لحث أنتيجيني ، وتتفاعل بتخصص مع الأنتيجن عن طريق مجموعة من مراكز التفاعل ، **شكل (١٦)** ، وتتكون الأجسام المضادة أساساً في نخاع العظام ، العقد الليمفاوية والطحال استجابة للحث

الأنتيجيني . تنتمي كل الأجسام المضادة إلى نوع من بروتينات سيروم الدم يسمى جلوبيولين ولذلك تسمى الأجسام المضادة باسم الجلوبيولينات المناعية Immunoglobulins ، ويرمز لها بالرمز Ig.

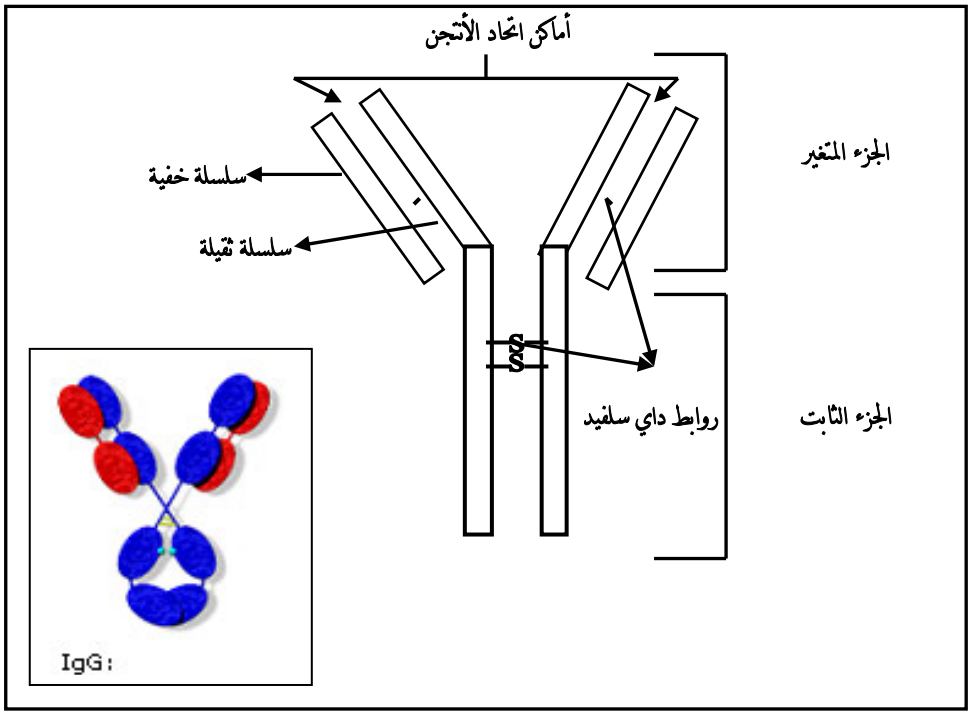


شكل (١٦) : رسم تخطيطي يوضح مراكز التفاعل بين الانتجين والجسم المضاد

يمكن تصنيف الأجسام المضادة على أساس ذوبانها في محاليل الأملاح المركزة وكذا شحنتها الالكترونية ، ووزنها الجزيئي ووفقاً لتركيبها الأنتجيني ، ففي حالة ذوبانها في محاليل الأملاح المركزة نجد أن استخدام محلول كبريتات الأمونيوم المشبع يعمل على ترسب بعض البروتينات المصلية ومنها الأجسام المضادة ، بينما يبقى البعض الآخر ذائباً وسميت البروتينات المترسبة جلوبين Globulins ومن ذلك الأجسام المضادة ، في حين أطلق على البروتينات الذائبة البومينات Albumins . أما في حالة معاملة المصل الكامل بالهجرة الكهربائية electrophoresis فإنه ينفصل إلى أربع أجزاء أو مناطق هي الالبومين serum albumin والأجزاء الثلاث الأخرى تمثل الجلوبيولين globulins ، وتصنف حسب هجرتها إلى جلوبيولينات α ، β و γ ، حيث أن α هي أكثرها شحنة سالبة ولذلك تتجه ناحية القطب الموجب خلف الألبومين مباشرة ولها وظائف مختلفة غير مناعية ، وتقع β خلف α مباشرة وتحتوي على بعض جزيئات الأجسام المضادة ، أما γ فهي آخر بروتينات المصل سالبة الشحنة وتحتوي على أغلب الأجسام المضادة . ومن حيث وزنها الجزيئي فإنه يتم ترسيب البروتينات وتوجد عدة طرق لقياس ذلك إلاّ أن أكثرها استخداماً هو تحديد المعدل الذي تترسب

به البروتينات عند تعريض محلولها للطرد المركزي فائق السرعة ومن ثم حساب ثابت الترسيب لكل بروتين ويعبر عنه بوحدة Svedberg ويرمز لها بالرمز S . ولأن هذه الجلوبيولينات المناعية بروتينات فإن ذلك يجعلها أنتجينات عند حقنها في أنواع مختلفة من الحيوانات وبذلك يمكن إنتاج أمصال مضادة antisera يمكنها أن تتفاعل مع جزيئات الجلوبيولينات المناعية وباستخدام هذه الأمصال يتضح تباين الجلوبيولينات المناعية حيث تقع في عدد من الأصناف المختلفة والتي توجد في جميع الثدييات والإنسان وهذه الأنواع هي IgG ، IgM ، IgA ، IgD و IgE .

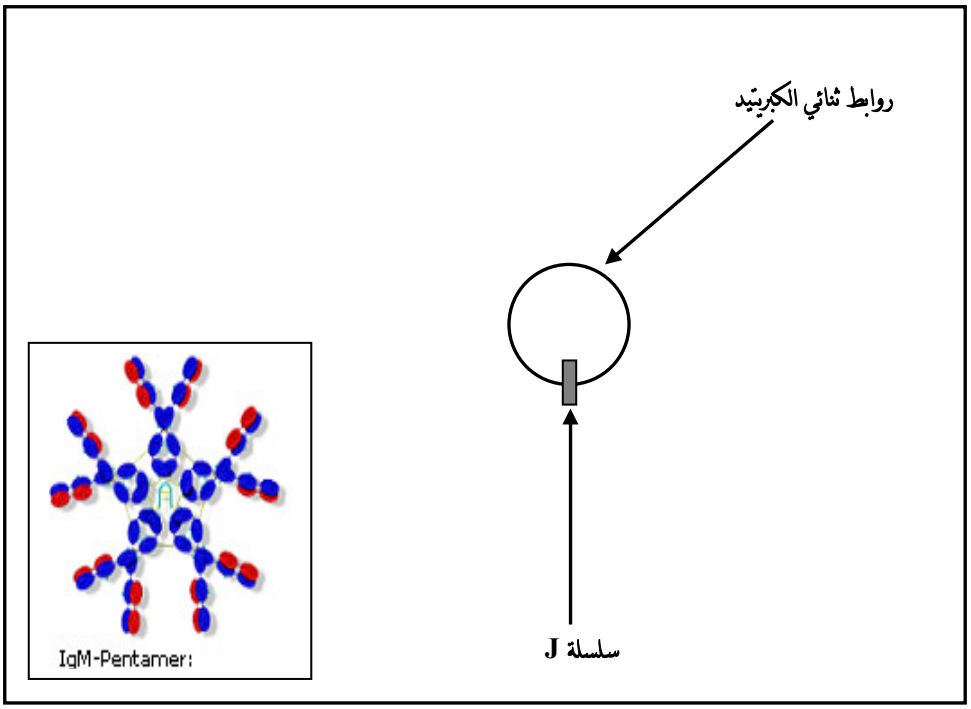
IgG : ويوجد بأعلى تركيز في المصل ويمكن اتخاذ تركيبة نموذج للجلوبيولينات المناعية الأخرى ، يبلغ الوزن الجزيئي لهذا البروتين ١٨٠٠٠٠ دالتون وثابت ترسيبه S7 ، ويظهر تحت المجهر الالكتروني على شكل حرف Y ، **شكل (١٧)** ، وذراعي الشكل لهما القدرة على الارتباط بمستضد (أنتجين) ، وعند معاملة جزيء IgG بإنزيم papain فإنه يفكك الجزيء إلى ثلاث قطع fragments متقاربة في الحجم وتمثل ذراعي وذيل الشكل Y ومن الملاحظ أن القطعتين اللتين تمثلان ذراعي الجزيء تتشابهان تماماً وتظل لهما القدرة على الارتباط بمستضد وتسمى Fab ، في حين أن القطعة الثالثة مثل الذيل وليس لها قدرة الارتباط بمستضد ولكنها قابلة للتبلور ويطلق عليها Fc .



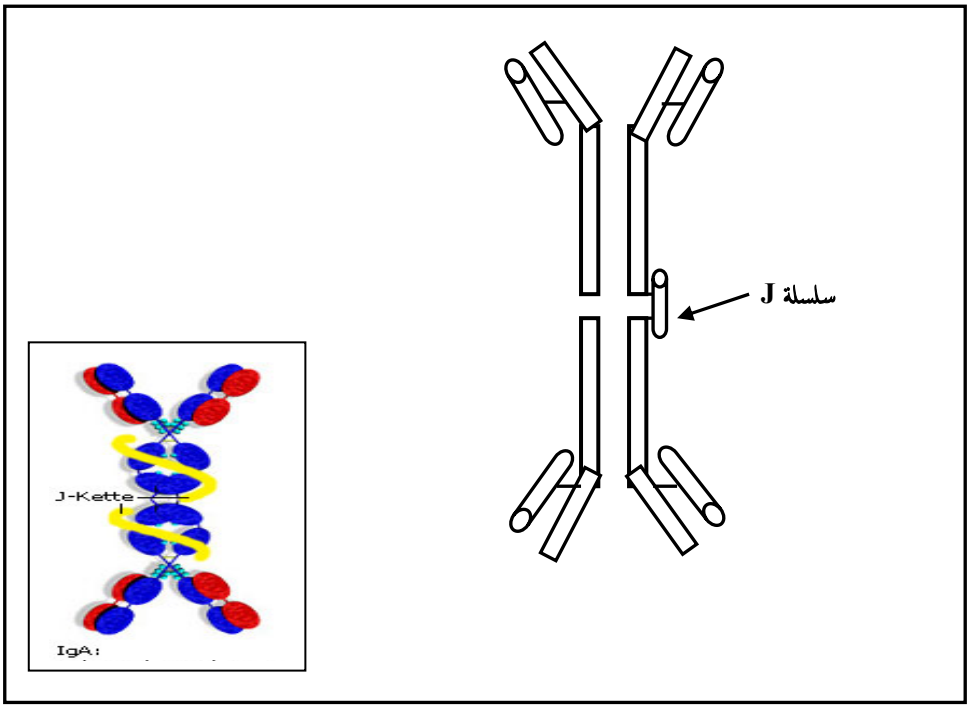
شكل (١٧) : الجلوبيولين المناعي IgG .

IgM : يحتل المركز الثاني من حيث التركيز في مصل الدم ووزنه الجزيئي حوالي ٩٠٠٠٠ دالتون ، ويتكون من خمس تحت وحدات كل منها تشبه في تركيبها جزيء الجلوبيولين المناعي الأساسي ذو الشكل Y ترتبط بواسطة روابط الكبريت بطريقة دائرية لتكون شكل النجمة، كما توجد رابطة صغيرة من عديد الببتيد الغني بالحمض الأميني cysteine تسمى سلسلة J ، **شكل (١٨)** ، وبحكم كبر حجم جزيء IgM فإنه يكون محصوراً في جهاز الأوعية الدموية ، ولذلك يحتمل أن يكون قليل الأهمية في توفير الحماية داخل سوائل الأنسجة أو إفرازات الجسم .

IgA : يوجد هذا الجلوبيولين في شكل ثنائيات تسمى dimmers وثلاثيات trimmers وقد يكون أعلى من ذلك ، وأكثر هذه المكونات شيوعاً هو الشكل الثنائي المكون من وحدتين مربوطتين بالسلسلة J ، **شكل (١٩)** ، ويعتبر IgA هو ثاني جلوبيولين مناعي من ناحية التركيز في مصل الإنسان وهو الجلوبيولين المناعي الرئيسي الموجود في الإفرازات الخارجية للجسم لذلك له أهمية في حماية القنوات المعوية والتنفسية والبولية التناسلية وأيضاً الثدي والعيون ضد الميكروبات .



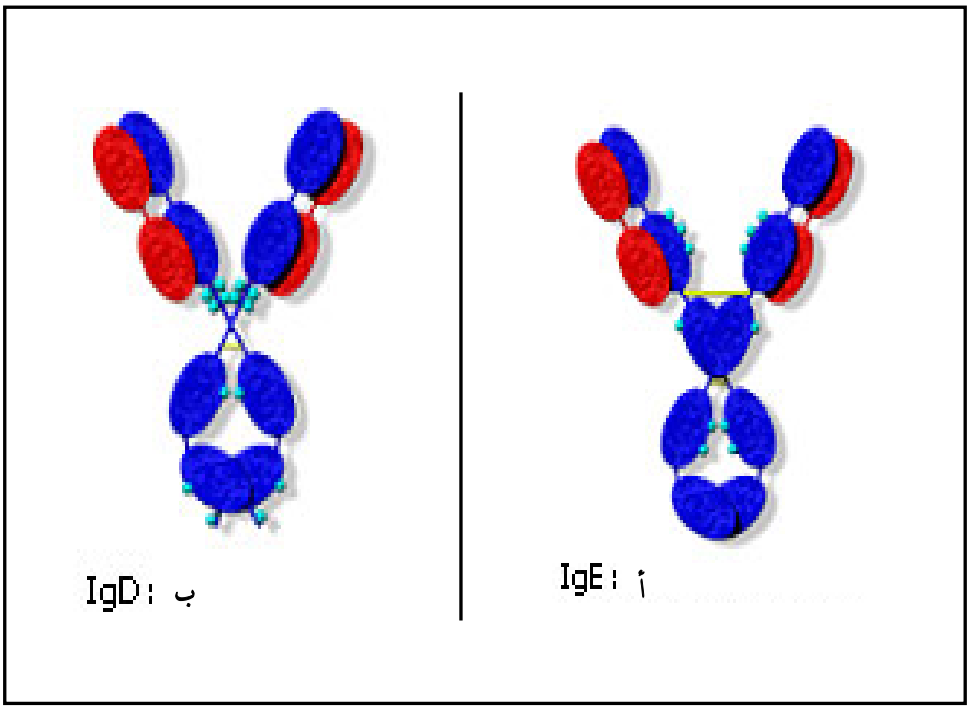
شكل (١٨) : الجلوبيولين المناعي IgM .



شكل (١٩) : الجلوبيولين المناعي IgA .

IgE : هذا الجلوبيولين له تركيب مشابه للشكل Y ووزنه الجزيئي ١٩٦٠٠٠ دالتون ، **شكل (٢٠– أ)** ، ويوجد بتركيز منخفض بمصل أنواع كثيرة فهو يوجد في الإنسان بتركيز ٢٠–٥٠٠ مج/مل وبالرغم من ذلك فله أهمية كبيرة في الاستجابة المناعية لكثير من الإصابات الديدانية .

IgD : وغالباً ما يوجد على سطح خلايا B الليمفاوية حيث يعمل كمستقبل للمستضد ، وهو أيضاً له تركيب مشابه للشكل Y ، **شكل (٢٠– ب)** ، ويوجد في الإنسان والحيوانات المعملية والدجاج ، ولم يثبت وجوده في الحيوانات المستأنسة .



شكل (٢٠) : الجلوبيولين المناعي IgE و IgD .

ويبدأ التفاعل بين الأنتجين والجسم المضاد بادمصاص أحدهما على سطح الآخر ثم ترتبط مراكز التفاعل بينهما بروابط أيونية ، هيدروجينية ، قطبية أو فان درفالس وهو أضعفها . ويتم الاتحاد بين الأنتجين والجسم المضاد بسرعة تصل إلى دقائق ولكن عمليات التجمع والترسيب الكاملة تحتاج فترة أطول لإتمامها .

- **الحساسية Allergy :**

الحساسية نوع من أنواع تفاعلات الأنتجين والجسم المضاد التي تتميز بحدوث استجابات فسيولوجية زائدة تظهر على الفرد الحساس بسبب مادة مولدة للحساسية تسمى allergen وقد تكون هذه المادة بروتينية أو غير بروتينية . تتوقف مظاهر الحساسية على نوع وكمية الأليرجن ومنفذ دخوله للجسم من استنشاق ، بلع ، حقن أو ملامسة للجلد أو غير ذلك ، إضافة إلى طبيعة الجسم المناعي المتفاعل مع الأليرجن ونوع النسيج المصاب ومكان حدوث الحساسية فقد تظهر على الجلد ، الجهاز التنفسي أو الجهاز الهضمي . ويمكن تقسيم أنواع الحساسية إلى عدة أنواع أهمها :

١. **الحساسية المبكرة :** وتظهر على الفرد بعد عدة دقائق وقد تصل عدة ساعات وذلك بإتحاد IgE مع الأليرجن مثل حبوب اللقاح ، بعض الأدوية ، بعض الأغذية ، بعض مستحضرات التجميل ، الغبار ، الفطريات وغير ذلك. ونتيجة لاتحاد IgE مع الأليرجن تنشط كرات الدم البيضاء وتتجمع في الأنسجة المتأثرة وتفرز مواد مثل histamine و serotonin مسببة ظهور أعراض الحساسية ، وقد تظهر الأعراض بشكل مخفف كما في حالة الأفراد الحساسين لحبوب اللقاح وبعض الروائح ، أو في صورة عطس ، سعال ، رشح من الأنف ودموع من العين أو التهابات جلدية غالباً ما تزول بعد زوال السبب ، كما قد تظهر أعراض الحساسية بشكل خطير كما في الحساسية من بعض الأدوية مثل البنسلين وتسمى فرط الحساسية وتظهر أعراضها بسرعة مسببة تهيج وطفح جلدي واحمرار وهرش وإنتفاخات ، كما قد تحدث صعوبة في التنفس وانقباض في القصبات الهوائية وانخفاض في ضغط الدم وقد تؤدي إلى الوفاة إلى لم تعالج سريعاً . يستخدم لعلاج الحساسية أدوية مضادات الهستامين antihistaminic drugs مثل antistine و ephedrine .

٢. **الحساسية المتأخرة :** وتظهر بعد يوم إلى عدة أيام نتيجة اتحاد خلايا ليمف T مع الأليرجن مما يؤدي إلى حدوث تحلل للخلايا الحساسة وإفراز مادة lymphokine الذائبة . وتظهر على المريض في صورة إنتفاخات جامدة بالجلد وقد يحدث موت لبعض الخلايا ، ومن أنواعها ما يعرف بحساسية الملامسة التي تظهر كحساسية على الجلد بعد فترة من ملامسة الجلد لبعض المواد الكيميائية أو المعادن ، وهذا النوع من الحساسية لا يتأثر بمضادات الهيستامين .

إنتاج الاستيرويدات
Production of Steroids

الاستيرويدات أحد أهم المركبات الكيميائية التي تستخدم طبياً والتي يمكن إنتاجها بواسطة عمليات التخمر الميكروبي المعروفة باسم **bioconversion** ، حيث يتم فيها تحويل مركب كيميائي إلى مركب آخر له نشاط بيولوجي محدد وذلك بفعل تشاط بعض الكائنات الدقيقة ، ويستخدم في هذه العمليات التخمرية مواد أوليّة تعرف باسم الاستيرولات والتي تستخرج من النباتات .

يتم اختيار الكائن الدقيق المناسب لإحداث التغير المرغوب على أساس قدرته الوراثية لإنتاج الإنزيمات اللازمة والتي تحدث تغير محدد في المركب الأوليّ لينتج المركب النهائي . وقد يتطلب الوصول إلى الناتج النهائي عدة مراحل باستخدام كائنات دقيقة مختلفة كل منها يؤدي تفاعل معين بحيث تؤدي مجموعة التفاعلات إلى تكوين المنتج النهائي . ومن أهم الأجناس التي يمكن أن تؤدي هذه التفاعلات الإنزيمية من الفطريات .sp *Curvularia* ، .sp *Aspergillus* ، .sp *Rhizopus* ومن الأكتينوميستات .sp *Streptomyces* والبكتيريا .sp *Corynebacterium* .

المركبات الطبية التي يتم الحصول عليها بهذه الطريقة تشمل فيتامين D ومركبات الكلوسترول ، الكورتيزون ، الاستراديول والاستروجين والبروجسترون الذي يدخل في تركيب حبوب منع الحمل وسيتم التعرف على كيفية تحضيره بواسطة الفطريات .

تحول البروجسترون إلى 11,α-hydroxy progestrone:

إنتاج السلالة المطلوبة في صورة نقية : يتم الحصول على السلالة المطلوبة في صورة نقية ويستخدم هنا فطر *Aspergillus ochraceus* .

المصدر الكربوني : يحضر وسط غذائي يحتوي على تركيز عالي من السكر حوالي ١٥٪ ، ومصدر الكربون يتم اختياره حسب نوع السلالة المستخدمة في العملية ويمكن أن يكون جلوكوز أو سكروز أو مولاس .

المصدر النيتروجيني : يضاف في صورة مركبات غير عضوية مثل نترات الصوديوم ، فوسفات الأمونيوم أو مصدر نيتروجيني غير عضوي مثل مستخلص منقوع الذرة .

الرقم الهيدروجيني : يضبط الرقم الهيدروجيني عند ٦,٥ .

درجة الحرارة : تضبط درجة حرارة التفاعل عند ٢٨°م .

طريقة التصنيع :

تبدأ العملية التخمرية بتلقيح وسط التخمر بالخلايا الخضرية أو بكونيدات السلالة الفطرية ، واستخدام الكونيدات يقلل من صعوبة استخلاص المنتج ، ثم يتم التحضين في ظروف هوائية مع اهتزاز المزرعة لمدة تصل إلى ٢٤ساعة ، أثناء هذه الفترة ينمو الغزل الفطري بغزارة وينخفض الرقم الهيدروجيني إلى حوالي ٥ ، كما يستهلك في هذه الأثناء نصف كمية السكر الموجودة بوسط التخمر .

تتم إضافة البروجسترون إلى وسط التخمر بتركيز ٠,٠١٪ من حجم وسط التخمير ، وذلك بعد إذابته في propelyne glycol حيث أن البروجسترون لا يذوب في الماء . ويتم التفاعل الذي يؤدي إلى تكوين 11,α-hydroxy progestrone خلال ١٨ساعة من إضافة البروجسترون إلى وسط التخمر ، ويراعى استمرار هز وتهوية المخمر . ولتقليل التأثير الضار للمذيب propelyne glycol ، ولزيادة كفاءة عملية التحول يضاف البروجسترون إلى المخمر على دفعات صغيرة لمدة ١٤ساعة ، وتتم التحولات الإنزيمية بعد حوالي ٤ساعات من آخر إضافة .

عملية استخلاص المنتج من الخطوات الصعبة في هذه الصناعة خاصة إذا كان وسط التخمر يحتوي على كمية كبيرة من المواد المضادة للرغاوي antifoam ، أو إذا كانت السلالة المستخدمة تكون نتائج ثانوية متراكمة في وسط النمو ، يستخلص المنتج من الراشح بعد التخلص من الغزل الفطري بالترشيح ومعاملة الراشح بمذيبات خاصة .

ميكروبيولوجيا البترول
Petroleum microbiology

ترتبط الكائنات الدقيقة بالبترول من تكوينه ، استخلاصه ، تحلله ، واستخدامه ، وتتطلب الدراسة في هذا المجال التعاون الوثيق بين المتخصصين في مجالات عديدة منها الميكروبيولوجيا ، الكيمياء ، الفيزياء ، الهندسة والجيولوجيا . ويمكن تلخيص النقاط المتعلقة بميكروبيولوجيا البترول في التالي :

- **تكوين البترول petroleum formation :**

تتكون معظم المواد الرسوبية في الأوساط البحرية من خلايا ميكروبية ميتة كما تتعرض هذه المواد المترسبة لتحولات بيوكيميائية تتم بواسطة مجموعات عديدة من الكائنات الدقيقة وتؤثر على عملية تكوين وإنتاج البترول حيث يحتوي البترول الخام على هيدروكربونات عديدة مع مركبات أخرى من النيتروجين ، الكبريت ، الفسفور وبعض العناصر الأخرى الناتجة من تحلل المواد العضوية .وتحتوي تربة المناطق المحتوية على البترول petroleum reservoir على أبخرة من هيدروكربونات مثل الميثان والإيثان ، ويمكن الكشف عنها باستخدامها كمصادر كربونية تضاف لوسط غذائي مناسب يحتوي على العناصر الغذائية الأخرى اللازمة ، ويختبر الوسط الغذائي بتنمية الكائنات الدقيقة عليها . ويعد عزل أعداد كبيرة من الكائنات الدقيقة المؤكسدة للهيدروكربونات كمصدر للكربون والطاقة من الأراضي البترولية دليل على وجود رواسب بترولية .

- **استخلاص البترول petroleum recovery :**

عند حفر بئر بترول فإن انسياب البترول أول الأمر يتم نتيجة للضغط الموجود بين الصخور الممسوك بها ، وباستمرار عملية الاستخلاص ينخفض الضغط ويقل انسياب البترول فيضغط الماء أو بخار الماء لإجبار زيت البترول على الصعود إلى السطح . وهنا يمكن أن يلعب النشاط الميكروبي دورا في استخلاص زيت البترول الممسوك بالصخور فمثلاً يؤدي حقن البكتيريا بالتربة إلى تكوين أحماض تساعد على إذابة الصخور كما يساعد الحقن البكتيري على تقليل لزوجة زيت البترول فينساب البترول الممسوك في الصخور .

- **تحلل البترول petroleum destruction :**

توجد مجموعة كبيرة من الكائنات الدقيقة التي تحلل الهيدروكربونات البترولية فبعضها يؤكسد غاز الميثان methylotrophic bacteria ومنها ما يؤكسد غاز الإيثان مثل أنواع تابعة لأجناس *Mycobacterium* sp. , *Pseudomonas* sp. ، ومنها ما يؤكسد مركبات الهيدروكربونات كالجازولين مسببة فساد البترول وتؤدي الأحماض المتكونة عنها إلى ثقب خزانات الوقود في السيارات والطائرات ، ومنها أنواع من البكتيريا *Achromobacter* sp. , *Alcaligenes* sp. , *Pseudomonas* sp. , *Sarcina* sp. ، وأنواع من الفطريات تنتمي للجنس *Aspergillus* sp. , *Monilia* sp. .

ومن المشاكل الكبيرة التي تواجه صناعة البترول تآكل corrosion أنابيب البترول المصنوعة من الحديد بواسطة البكتيريا المختزلة للكبريت مثل *Desulfovibrio* spp. ، والتي تختزل الكبريت إلى H_2S حيث يتفاعل مع حديد الأنابيب ويؤدي إلى تآكلها .

ويحدث في الملاحة الدولية وقوع بعض حوادث البترول سواء لناقلات النفط أو عند تفريغ الناقلات في موانئ الاستيراد وإعادة تعبئتها بماء البحر ليتم تفريغه في موانئ الإنتاج . وتؤدي حوادث ناقلات النفط إلى تكوين بقع كبيرة من زيت البترول مسببه تلوث خطير بالبيئة ، ومن طرق التخلص من تلك البقع الزيتية استخدام الطرق البيولوجية التي يزداد استخدامها ، ويتم ذلك بتلقيح بقع الزيت بكائنات دقيقة لها القدرة على تحليله ، وقد أمكن بالهندسة الوراثية الحصول على سلالات فعالة جداً من *Pseudomonas putida* لها القدرة على تحليل المجموعات الأربع الرئيسية لهيدروكربونات البترول camphor , octane , xylene and naphthalene وبذلك يمكن التخلص من الآثار الضارة لبقع زيت البترول .

ميكروبيولوجيا مياه المخلفات
Wastewater microbiology

مياه المخلفات هي المياه الناتجة من استعمال مجتمع أو مؤسسة أو غير ذلك وتشمل :

١. مياه مخلفات المنازل domestic wastewater : وتشمل كل ما يتم صرفه عن طريق شبكات صرف المنازل من مطابخ ودورات المياه ويطلق عليها مياه مخلفات المجاري sewage water .

٢. مياه مخلفات المصانع industrial wastewater : وتشمل مخلفات المصانع من أحماض ، زيوت ومعادن تنتج من مختلف الصناعات المعدنية والبترولية والمناجم ، ومخلفات عضوية نباتية وحيوانية مثل ما ينتج من مخلفات مصانع السكر ، الورق ، المصانع الغذائية والمبيدات .

٣. مياه مخلفات المزارع والحدائق وتشمل بقايا المخصبات والمبيدات والتي قد تصل للصرف الصحي .

٤. المياه الجوفية والسطحية والجوية التي تصل للصرف الصحي .

وسيتم البحث في معالجة مياه مخلفات المنازل أيّ مخلفات المجاري .

ميكروبيولوجيا مياه المجاري sewage water :

تتكون مخلفات مياه المجاري من ٩٩٪ ماء ، ١٪ مواد صلبة معلقة عضوية وغير عضوية ، وقد تكون في حالة غروية أو ذائبة رقمها الهيدروجيني يتراوح بين ٦–٨ . وتتكون مياه المجاري من مواد نيتروجينية مثل اليوريا ، البروتين ، الأمينات والأحماض الأمينية ، إضافة إلى مواد غير نيتروجينية كالكربوهيدرات والدهون ، وأخيراً مخلفات الصابون ومواد التنظيف التركيبية الحديثة المقاومة للتحلل الميكروبيولوجي . وتختلف الصفات الميكروبيولوجية باختلاف تركيب مخلفات مياه المجاري وبصفة عامة تحتوي على بروتوزوا ، فطريات، طحالب ، بكتيريا وفيروسات . معظم أنواع البكتيريا الملوثة لمياه المجاري بكتيريا القولون وهي الأكثر عدداً يليها *Strptococcus* sp. ثم العصويات المتجرثمة اللاهوائية مثل *Clostredium* sp. ، وباقي أنواع البكتيريا الموجودة بالجهاز المعوي .

وعند معالجة مياه المجاري فإن أعداد وأنواع الميكروبات السائدة تتغير ، بتغير ظروف خطوات المعالجة ، وتحت ظروف الهضم اللاهوائي لمخلفات المجاري ، تسود الأنواع الاختيارية مثل *Enterobacter* sp. , *Escherichia* sp. and *Pseudomonas* sp. وباستمرار الظروف اللاهوائية تسود البكتيريا المنتجة لغاز الميثان *Methanococcus* sp. *Methanobacterium* sp. .

التخلص من مياه المجاري غير المعالجة sewage disposal :

التخلص من مياه المجاري عملية ضرورية لتجنب خطورتها وما تسببه من أمراض ومشاكل بيئية ، يتم التخلص من مخلفات المجاري في المزارع والأرياف دون معالجة بتجميعها في خزانات تفرغ كل مدة وتستخدم محتوياتها كسماد عضوي بعد إضافة مسحوق الجير الحي للقضاء على ما تحتويه من كائنات دقيقة غير مرغوبة ، في حين تتخلص بعض المجتمعات الصغيرة بطريقة التخفيف حيث تلقى بمخلفات المجاري في نهر أو بحر فيحدث تخفيف لتلك المخلفات وهنا لا بد أن تكون نسبة المخلفات إلى مياه التخفيف ١:٥٠ وبذلك تتوفر كمية كافية من الأكسجين الذائب في الماء للأكسدة البيولوجية واستمرار الحياة المائية . وفي هذه الطريقة يتم إلقاء مياه المجاري من خلال أنابيب تمتد في عمق الماء بعيداً عن الشاطئ ولمسافة تزيد عن ٥٠٠م ، وتحدث لمياه المجاري بعد إلقائها في الماء عملية تنقية ذاتية self-purification ، فتتحلل المواد العضوية فيها تحت الظروف الهوائية بأكسدة الكائنات الدقيقة لها بيولوجيا وتحولها إلى عناصر معدنية مما يقضي على الكائنات الدقيقة الممرضة ، وعملية التحلل في المناطق الحارة أسرع منها في المناطق الباردة .وتعتبر هذه العملية غير مجدية في المدن الكبيرة بل قد تكون ضارة وتسبب الكثير من مشاكل التلوث مثل ظهور روائح كريهة وغير مستحبة وزيادة المركبات العضوية بالمياه ونمو الكائنات الدقيقة اللاهوائية مما يؤدي إلى موت الأسماك والأحياء المائية .ولذلك لابد من معالجة مياه المجاري كيميائيا وبيولوجيا قبل التخلص منها ، ويتم ذلك بتحليل مياه المجاري من مواد عضوية والقضاء على ما تحويه من كائنات دقيقة مرضية.

وتتميز معالجة مياه المجاري قبل التخلص منها بالتالي :

- منع انتشار الميكروبات الممرضة .
- منع تلوث المياه التي ستلقى بها مياه المجاري المعالجة مما يحافظ على صحة مستخدمي هذه المياه وعلى الثروة المائية النباتية أو الحيوانية .
- التخلص من المواد العضوية والروائح الكريهة الناتجة من تحللها ، كما يتم التخلص من الرواسب غير المقبولة .
- استخدام المخلفات كأسمدة عضوية أو كمصادر بديلة للطاقة .

خطوات معالجة مياه المجاري sewage treatment processes :

تتم معالجة مياه المجاري بطرق متعددة ومتنوعة حيث يتم نقل مياه المجاري بواسطة أنابيب وجمعها خارج المنطقة السكنية لتتم معالجتها وتتلخص خطوات المعالجة فيما يلي ، **شكل (٢١)** :

المعالجة الابتدائية primary treatment :

ويتم في هذه المرحلة التخلص من المواد الصلبة ، الأحجار ، الأخشاب ، الزجاج والأسلاك وغير ذلك من خلال تمرير المياه في حواجز على شكل شبكة واسعة تعمل كمصفاة screening لفصل المواد الصلبة الكبيرة الحجم . يتم بعد ذلك عملية لترسيب مياه المخلفات في أحواض الترسيب sedimentation tanks ، وللمساعدة في عملية الترسيب وزيادة سرعتها تضاف بعض المواد مثل أملاح الحديد وأملاح الألومنيوم (الشبة) مما يؤدي إلى تكوين معلق غروي يساعد على سرعة تجميع الحبيبات وترسيبها ، وأثناء ذلك يطفو الريم scum على السطح وهو عبارة عن مواد دهنية تكشط من آن لآخر للتخلص منها ، ويتكون عند إضافة كبريتات الحديديك إلى مياه المجاري الهيدروكسيد وحمض الكبريتيك حسب المعادلة التالية :

$$Fe_2(SO_4)_3 + 6H_2O \rightarrow 2Fe(OH)_3 + 3H_2SO_4$$

$$Al_2(SO_4)_3 + 6H_2O \rightarrow 2Al(OH)_3 + 3H_2SO_4$$

وهذه التفاعلات عكسية لذلك تضاف مواد توقف التفاعلات العكسية مثل كربونات الكالسيوم ، كربونات الصوديوم أو هيدروكسيد الكالسيوم والتي تتحد مع حامض الكبريتيك مكونة كبريتات الكالسيوم $CaSO_4$ ، وبذلك تزيد كفاءة عملية ترسيب المواد العالقة بالمياه. ويطلق على ما يترسب في قاع الحوض حمأة sludge ، ويتم جمعه ومعالجته ، كما يتم معالجة السائل effluent بيولوجيا وكيميائيا قبل الاستهلاك .

المعالجة البيولوجية biological treatment :

تعالج السوائل effluent الناتجة من المعالجة الابتدائية بأكسدتها بيولوجيا ، **شكل (٢٢)** ، للتخلص مما تحتويه من مواد عضوية وتحويلها إلى كحولات وأحماض عضوية ومن ثم إلى H_2S ، NH_3 ، H_2O و CO_2 .تتم المعالجة في أحواض المعالجة البيولوجية بإضافة الحمأة النشطة بنسبة ٢٠٪ ، مع توفير الظروف الهوائية ، فتتكون أملاح الفوسفات والنترات التي يتم التخلص منها بالمعالجة البيولوجية تحت

الظروف اللاهوائية وتلي هذه الخطوة المعالجة الهوائية . بعد المعالجة البيولوجية الهوائية واللاهوائية تفصل الرواسب وتؤخذ السوائل وتمرر على مرشحات رملية حيث تتوفر الظروف الهوائية والكائنات الدقيقة لاستكمال تحلل المواد العضوية .

المعالجة النهائية final treatment :

تعالج السوائل الناتجة من المرشحات بالكلور للتخلص مما بها من كائنات دقيقة ممرضة ، والسوائل الناتجة بعد المعالجة تستخدم في ريّ أشجار الزينة أو استصلاح الأراضي أو يتم التخلص منها بإلقائها في نهر أو بحر .

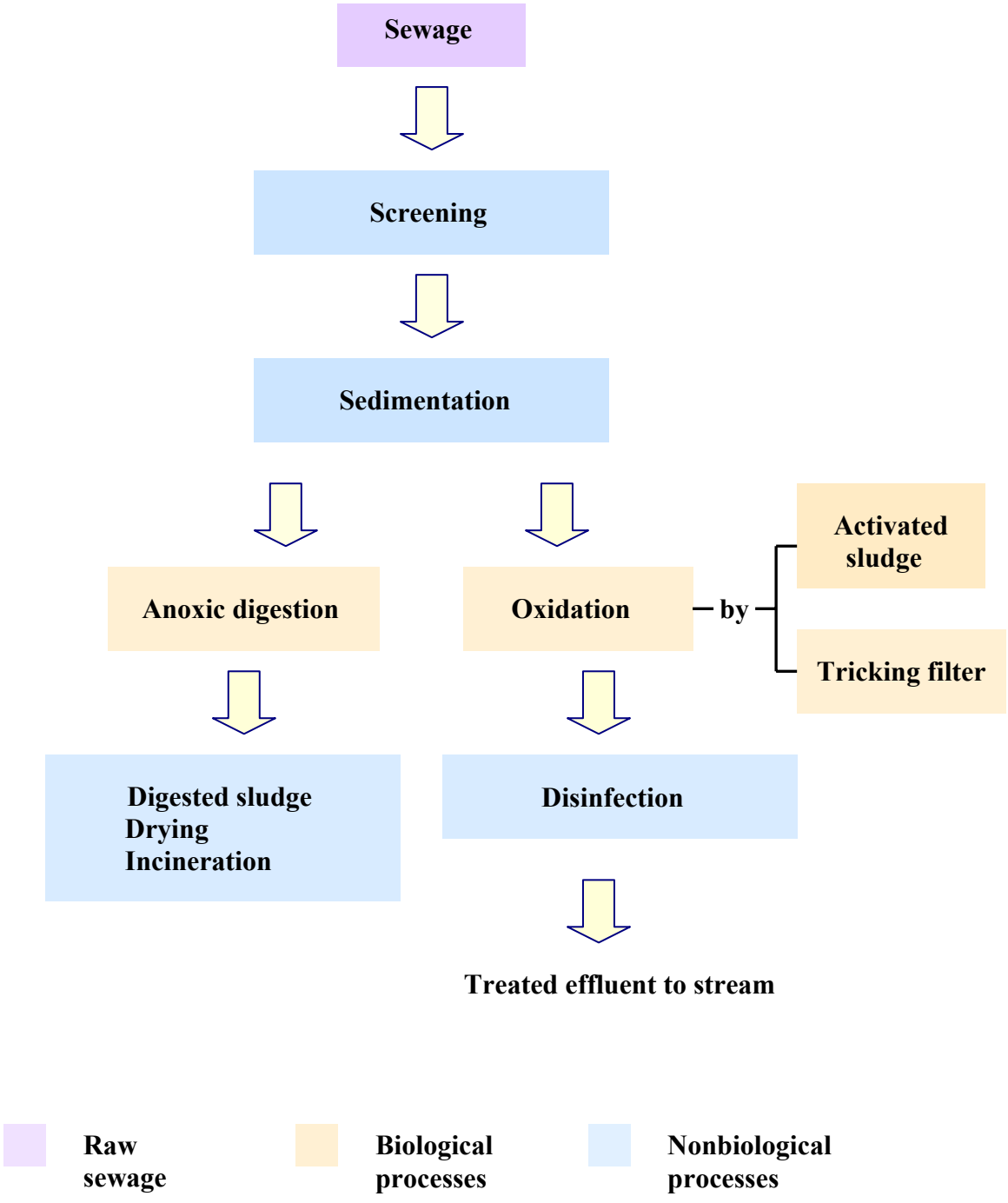
معالجة المواد الصلبة sludge :

تجمع المواد الصلبة الناتجة من أحواض الترسيب أو من أحواض المعالجة البيولوجية وتعالج بإحدى طريقتين :

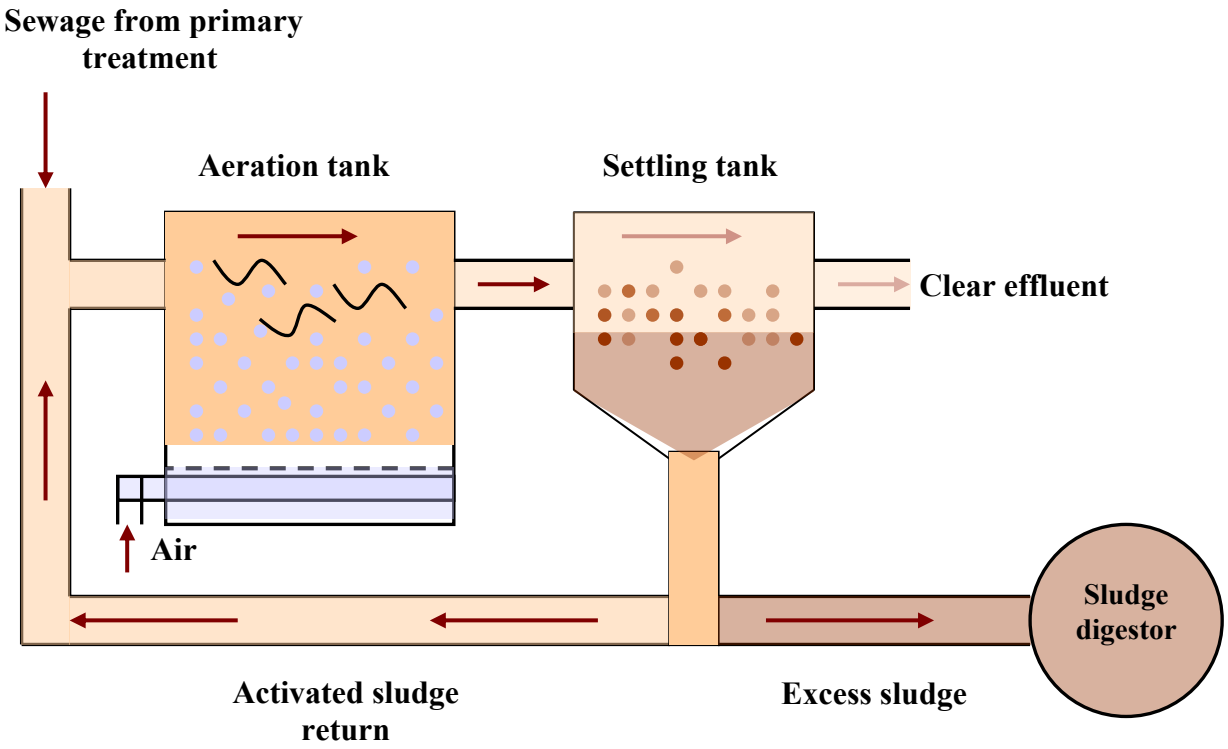
١. تجفف في أحواض خاصة ثم تجمع وتطحن وتنعم وتستعمل كسماد عضوي .
٢. تخمر المواد الصلبة لا هوائياً لإنتاج الغاز الحيوي والسماد العضوي .

الحمأة النشطة Activated sludge :

الحمأة النشطة عبارة عن رواسب مخلفات مجاري حديثة معالجة غنية بالكائنات الدقيقة من بكتيريا ، فطريات وخمائر والتي تضاف إليها كبادئ في أحواض المعالجة البيولوجية فتساعد تحت الظروف الهوائية على سرعة تحلل ومعدنة المواد العضوية الموجودة بمياه المجاري . وتتجمع الكائنات الدقيقة الموجودة بالحمأة النشطة أو بأحواض المعالجة والمرشحات بشكل كتل أو أغشية مختلطة بمواد صمغية لزجة من سكريات معقدة ويطلق على هذه الكتل الميكروبية الصمغية zoogloea ، ومن البكتيريا المكونة لها أنواع من *Bacillus* sp. , *Eschericgia* sp. and *Listeria* sp. ، ويتم اختبار كفاءة معالجة مياه المجاري باستخدام اختبار لكشف التلوث الحيوي ، كما في اختبار الكشف عن بكتيريا القولون و اختبار الكشف عن بكتيريا *Listeria monocytogenes* ، وتوجد هذه البكتيريا في مياه المجاري وهي مصاحبة لبكتيريا القولون بأعداد تصل لمئات الآلاف ، وتعيش في مياه المجاري مدة طويلة تصل لعدة أسابيع كما أنها تقاوم الكلور بدرجة كبيرة لذلك يؤخذ وجودها في مياه المجاري دليل على عدم كفاءة عملية المعالجة أيّ على وجود ميكروبات مرضية . وهذه البكتيريا عصوية قصيرة جداً مفردة أو في سلاسل موجبة لصبغة جرام غير متجرثمة متحركة هوائية اختيارية، وهي ممرضة للإنسان والحيوان فتسبب للإنسان مرض listerosis و الأجهاض وإالتهاب الضرع والإلتهاب السحائي للحيواني .



شكل (٢١):رسم تخطيطي يوضح مراحل معالجة مياه المجاري .



شكل (٢٢) : رسم تخطيطي يوضح خطوات المعالجة البيولوجية في تنقية مياه المجاري .

المقاومة الحيوية
Biological control

للأحياء الدقيقة دور كبير في خصوبة التربة حيث يمكن زيادة خصوبة التربة بزيادة تثبيت النيتروجين بواسطة البكتيريا المثبتة للنيتروجين أو بكتيريا النترتة ، كما أن بعض أنواع البكتريا تزيد من خصوبة التربة بتحسين خواصها فإذا كانت التربة قلوية يتم إضافة الكبريت بهدف تشجيع نمو البكتيريا التي تؤكسد الكبريت لإنتاج غاز ثاني أكسيد الكبريت وثالث أكسيد الكبريت ذات الصفات الحمضية مما يحسن صفات التربة ويزيد من خصوبتها ، في حين تروى الأراضي الحمضية بمحاليل مخففة من الأمونيا بهدف زيادة محتوى الأرض من النترات بفعل بكتريا *Nitrosomonas* sp. and *Nitrobacter* sp. .وتؤدي الظروف البيئية إلى تشجيع نمو كائنات دقيقة دون أخرى، لذلك يمكن التحكم في صفات التربة بإتباع أساليب معينة كالحرث والري فمثلاً إغراق الأراضي الغنية بالمواد العضوية يؤدي إلى تقليل كمية الأكسجين المتاح مما يشجع نمو البكتيريا اللاهوائية والتي تنتج أحماض عضوية مثل حمض الخليك ، الفورميك والبيوتريك كما تتكون أحماض اللاكتيك والسكسنيك ومثل هذه المواد تعتبر عامل محدد لنمو الجذور .ويؤدي الحرث الجيد للتربة إلى حدوث تهوية وتشجيع لنمو الكائنات الدقيقة الهوائية مما يقلل من عمليات اختزال النترات والكبريتات . وتعتبر كل الإضافات ذات الأصل الحيوي والتي تمد النبات النامي باحتياجاته الغذائية تسميد حيوي biofertilization .

المقاومة الحيوية biological control:

إن المقاومة الحيوية هي استخدام الكائن الدقيق بصورته الطبيعية أو المحور جينياً أو منتجات الجين لخفض تأثير الكائنات الدقيقة غير المرغوبة والتي يمكن أن تسبب آفات زراعية بحيث تلاءم هذه الكائنات المكافحة عند استخدامها على كل من المحاصيل الحقلية ، الأشجار والثمار الكائنات الدقيقة النافعة ولا تسبب لها ضرر .

ويتم تحديد الكائن الدقيق الفعال في المقاومة الحيوية لأمراض النبات على بعض الصفات التي يمكن تلخيصها في الآتي :

١. أن ينتج مضادات حيوية ضد الكائنات الممرضة .

٢. ينتج مركبات تعمل كحاملات للحديد siderphores ، فتجعل هذا العنصر أقل إتاحة للكائنات الممرضة .

٣. تكون لدية قدرة عالية على التنافس على الغذاء أو مكان النمو الملائم للكائن الممرض أو على كليهما معاً .

٤. ينتج مركبات هرمونية تزيد في نمو النبات مثل المواد الشبيهة بالجبريلينات أو تزيد مقاومة النبات للإصابة بالمرض .

طرق المقاومة الحيوية :

تستخدم طرق مختلفة لمقاومة الكائنات الدقيقة الضارة بعض هذه الطرق أعطى نتائج غير مشجعة والبعض الآخر أعطى نتائج مشجعة خاصة بعد تطور العلوم المختلفة وتطور علم الهندسة الجينية وإنتاج سلالات بكتيريا لها كفاءة عالية في هذا المجال . ومن الطرق المستخدمة في المقاومة الحيوية :

١. **حقن التربة أو النسيج النباتي بكائنات حية دقيقة مضادة للكائن الممرض :** وهذه الطريقة من أولى الوسائل المستخدمة في المقاومة الحيوية ، والنتائج لا تكون دائماً مشجعة لأن البيئة الطبيعية تحكمها ظروف بيئية محددة تسيطر على مكونات الميكوفلورا والفونا الطبيعية بحيث تصبح في حالة أتزان يصعب التأثير عليها . بالرغم من أمكن مقاومة الفطر *Fomes annosus* بفطر *Peniophora gigantae* ، وهما من نفس المجموعة إلاّ أن فطر *F. annosus* يصيب أشجار الغابات ويؤدي إلى عفن الجذور والجذع فيها ، وعند رش الأشجار بجراثيم الفطر *P. gigantae* يؤدي نمو الجراثيم إلى منع الإصابة بفطر *F. annosus* .

٢. **تغيير ظروف التربة :** ويشمل وسائل مختلفة تؤدي إلى تشجيع نشاط بعض مكونات ميكوفلورا التربة على حساب تثبيط نشاط البعض الآخر ، وهذه الطريقة من أهم وسائل المقاومة الحيوية لأمراض النبات . ومن أكثر الطرق المستخدمة في تغيير ظروف التربة إضافة مواد عضوية خاصة بقايا المحاصيل الجافة مثل الفول والترمس إلى التربة أثناء الحراثة . كما يمكن تغيير pH التربة أو معاملتها بالمواد الكيميائية أو التعقيم الجزئي لها ، ومن أهم الأمراض التي تم مقاومتها بهذه الطريقة الأمراض الناتجة عن *R. solani* و *F. solani* . وتؤثر إضافة المادة العضوية إلى التربة على الكائن مسبب المرض بعدة طرق منها :

- تأثير مباشر على نشاط الفطر ونموه على جذور العائل ، حيث أن إضافة المادة العضوية خاصة الكربونية تؤدي إلى زيادة معدل إنتاج CO_2 في التربة والفطر الممرض حساس لهذا الغاز لذلك يحد وجوده من زيادة نمو الفطر وبالتالي تقدمه على سطح الجذر وإصابته النبات .

- تأثير مباشر على بقاء الفطر في التربة من محصول لآخر في البقايا النباتية ، ويعتمد في ذلك على وجود مصدر نيتروجين قابل للذوبان بحيث ينتشر في الوسط ويكون صالح للفطر وبالتالي فإن إضافة السماد العضوي الفقير بالنيتروجين يؤدي إلى استنفاذ النيتروجين المتوفر في التربة مما يؤثر على قدرة بقاء الفطر ويقللها .
- تأثير غير مباشر على نشاط الطفيل عن طريق زيادة درجة مقاومة العائل ، حيث تؤدي إضافة المادة العضوية الفقيرة بالنيتروجين والغنية بالكربون إلى تثبيت النيتروجين الجوي وأثناء نمو العائل يتحلل النيتروجين المثبت ويصبح في صورة صالحة للنبات مما يساعد النبات على النمو ومقاومة الفطر الممرض . ويمكن إضافة مواد تحتوي على الكايتين إلى التربة وذلك لمقاومة عفن الجذور ، حيث يشجع نمو الكائنات الدقيقة المضادة لفطريات العفن لأنه يدخل في تركيب جدر خلاياها يستثنى من ذلك الفطريات الطحلبية فلا يستخدم الكايتين في مقاومتها .

٣. **التفاعل التطفلي :** ويقصد به تفاعل بين كائنين أو أكثر على سطح العائل بحيث يؤثر احدهما أو كليهما على الآخر ، فمثلاً يتطفل فطر *Trichoderma* sp. على الفطريات الأخرى الممرضة مثل فطر *Pythium ultimum* و *R.solani* ، حيث يمد الطفيل فروع هيفاته للعائل المستهدف وتلتف حولها وتمسك بها بواسطة أجسام تشبه أعضاء الامتصاص وتخترق غزله الفطري .

٤. **المنافسة على الحديد:** يمكن أن تؤثر المقاومة الحيوية عن طريق كبح نمو الكائن الممرض بحرمانه من مواد غذائية أساسية له مثل الحديد فهو عنصر يوجد في القشرة الأرضية ولكن بصورة غير قابلة للذوبان مما يجعله في التربة بتركيزات ضئيلة جداً وهذا يُعد تحديا للبكتيريا التي تحتاج في نموها للحديد حيث تنتج البكتيريا الضوئية ما يعرف بالسايدروفورز siderophores وهي مركبات تنتجها خلايا البكتيريا لها جاذبية عالية للحديد ثلاثي التكافؤ ، والكائنات الدقيقة الممرضة حساسة للتثبيط الناتج بواسطة السايدروفورز لأسباب منها أن بعض أنواع الكائنات الممرضة لا يمكنها أن تنتج السايدروفورز أو أنها غير قادرة على استخدام ما تنتجه البكتيريا المقاومة مما يجعل الحديد غير متاح لها .

٥. **التضاد الحيوي :** ويعني مقدرة كائن حي على إفراز مادة أو أكثر من المنتجات الأيضية تؤثر تأثير ضار على واحد أو أكثر من الكائنات الأخرى ، ولا يقتصر التضاد الحيوي على الكائنات الدقيقة حيث تفرز جذور بعض النباتات مواد مضادة تؤثر على طبيعة الكائنات الدقيقة التي تنمو في المحيط الجذري .ويعتبر التضاد الحيوي من أهم الطرق المستخدمة في المقاومة الحيوية فهي تؤدي إلى تثبيط نمو الكائن الممرض أو تقضي عليه كلّية ، كما أنها توقف إنبات الوحدات التكاثرية للكائن الممرض . ويعتمد التضاد الحيوي على قدرة الكائن الدقيق المضاد على إنتاج نواتج ثانوية للأيض الغذائي في صورة مضادات حيوية تتكون من

مواد سامة تتسبب في وقف النمو الخضري وموت الغزل الفطري للفطر الممرض مثلاً بطريقة مباشرة ، وتعد بكتيريا *Pseudomonase* sp. ، *Agrobacterium* sp. و *Bacillus* sp. أكثر الأنواع استخداماً في المقاومة الحيوية لقدرتها على إنتاج مضادات الحيوية تمنع وتقتل مدى واسع من البكتيريا الممرضة للنبات ولها أيضاً القدرة على الهدم السريع لمستعمرات الفطر الممرض . وتؤثر الظروف الكيميائية والغذائية في التربة على إنتاج المواد السامة الناتجة من التفاعلات الأيضية الغذائية للبكتيريا ، كما تؤثر درجة الحموضة للتربة والأسمدة الكيميائية على نوع المضاد الحيوي الناتج .

نشاط البكتيريا في التعطين وإنتاج السيلاج

Bacteria activity in retting and silage production

تعرف عملية التعطين بأنها معالجة ألياف نبات الكتان أو اللوف بواسطة الكائنات الدقيقة ، وتهدف هذه العملية فصل ألياف الكتان عن الساق و الحصول على الألياف ومن ثم تهيئتها للاستخدام الصناعي في صناعة الأقمشة . و تجرى هذه العملية بوضع حزم الكتان بعد تسويرها في أحواض أسمنتية بها كمية كافية من المياه لغمر القش حيث تقوم البكتريا الهوائية بتحليل المواد التي تلصق ألياف الكتان بعضها البعض و كذلك خشب الساق بحيث يسهل فصل الألياف عن الساق بعد تمام عملية التعطين ، **و يشترط لتمام عملية التعطين ما يلي :**

١. كمية كافية من المياه تكفى لغمر القش بحوض التعطين .
٢. درجة حرارة ما بين ٢٨–٣٢ ° م .
٣. المحافظة على درجة الحموضة للمياه بين ٤–٦ ، و هي الدرجة التي تنشط فيها البكتيريا الهوائية و تتراوح مدة التعطين ما بين (٤–٧ أيام) تبعا لدرجة الحرارة و سمك نباتات الكتان.

و تؤخذ عينة من القش للكشف على درجة التعطين و التي تعرف بتمامها حينما يتم كسر الساق محدثا صوتا واضحا كذلك سهولة فصل الألياف عن الساق. و مازالت هناك دراسات على عملية التعطين بهدف تحسين جودة الألياف ليسهل تصديرها إلي الخارج بالإضافة إلي الحصول على منسوجات عالية الجودة .

تعريف السيلاج

السيلاج هو المواد الخضراء المتخمرة أو المخللة حيث يتم التخمر اللاهوائي للنباتات الخضراء، فتتحول السكريات الموجودة فيه إلى حمض اللبن بشكل رئيسي وحمض الخل. . وغيرها كأحماض ثانوية، وبذا يمكن أن نسمي السيلاج بأنه النباتات الخضراء المحفوظة.

وتشمل الذرة الصفراء، البيضاء ، الشوفان و الشعير بأصنافه المختلفة و الأعشاب النجيلية والبقولية. وتكمن **أهمية السيلاج في النقاط التالية:**

- توفير المادة الخضراء المحفوظة إلى فترات من العام لا تتوفر فيها الأعلاف الخضراء العادية.
- تخزين المادة الخضراء من السنوات الخصبة ذات الإنتاج العالي إلى السنوات الجافة ذات الإنتاج المنخفض بحسب كمية هطول الأمطار من سنة لأخرى.
- يشكل احتياطي علفي في المزارع الكبيرة حيث يجب توفر أعلاف متنوعة كاحتياط في هذه المزارع لستة أشهر قادمة، تحسباً من حصول أزمات في تأمين الأعلاف الأخرى.
- يؤمن تقديم عليقة متوازنة لحيوانات المزرعة على مدار العام.
- إن هذه الطريقة تحتاج إلى أماكن تخزين صغيرة وقليلة التكلفة قياساً بالأعلاف الأخرى .
- إن احتمالات تعرضه للتلف قليلة مثل التعرض للحريق أو غير ذلك.
- السيلاج قابل للتخزين عدة سنوات دون تغير كبير ومهم في تركيبه إذا كان مغلق تماماً ومضغوط بشكل جيد .

إن تركيب السيلاج قريب من تركيب المادة الخضراء حيث أن التغير الرئيسي يتم بتحويل السكريات Carbohydrates بالتخمر اللاهوائي إلى حمض اللاكتيك الأسهل هضماً في كرش الحيوان. ويحوي فيتامينات مختلفة خاصة فيتامين (أ) أو كاروتين إضافة إلى عناصر معدنية وبروتين بنسب مختلفة حسب وجودها في المادة الخضراء الطازجة.

ويتم تحضير السيلاج بأكثر من طريقة وسنشرح هنا الطريقة العادية حيث يتم تكوين حمض اللاكتيك بواسطة البكتريا التي يحملها العلف الأخضر إذ تتخمر الكربوهيدرات الذاتية في النبات الأخضر وتتحول إلى حمض اللاكتيك الذي يرفع الحموضة في السيلاج إلى ٣,٨–٤ تتراوح نسبة حمض اللاكتيك حينئذٍ فيه بين ٨–١٢% من المادة الجافة تماماً .وفي هذه الحالة ينتج معنا سيلاج جيد النوعية وهذه الطريقة منتشرة في معظم دول العالم لعدم إضافة أية أمواد أخرى إلى العلف الأخضر المصنع ولسهولة تطبيقها .ويمكن من الناحية العملية تغطية حفر السيلو وهي الحفر التي يوضع فيها السيلاج **بإحدى الطرق التالية:**

١– غطاء من النايلون (البلاستيك الرقيق الشفاف) يثبت من أطرافه على أطرف الحفرة بالحجارة ثم طبقة من الدريس فطبقة ثالثة رقيقة من التراب سماكتها ٥–١٠ سم بحيث يتم تغطية الدريس تماماً .

٢- غطاء من النايلون الشفاف يثبت بالحجارة على أطراف الحفرة ثم طبقة من التبن في حال عدم توفر الدريس أو القش اليابس فطبقة رقيقة من التراب يمكنها تغطية طبقة التبن.

٣- غطاء من النايلون الشفاف ثم طبقة من الحشيش الأخضر الذي يصنع منه السيلاج في حال عدم توفر الدريس أو القش أو التبن فطبقة رقيقة من التراب بحيث تغطي طبقة الحشيش الأخضر.

يتم فتح السيلو بعد اكتمال عملية التخمر اللاهوائي لكامل كتلة المادة الخضراء المسيلجة وهذه تستغرق عادة حوالي ٤٥-٦٠ يوماً لذلك لايفتح السيلو إلا بعد مرور هذه المدة على الأقل من إغلاقه إغلاقاً محكماً علماً أنه يمكن حفظ السيلاج وعدم فتحه أكثر من سنة حسب الوقت الذي تحتاجه المزرعة على مدار العام.

المراجع :

التفاعلات الإنزيمية في الخلية الميكروبية

صناعة الأجبان

المقاومة الحيوية والمستضدات الثلاث

علم الأحياء الدقيقة التطبيقي

الهندسة الوراثية

علم المناعة والأمصال

ميكروبيولوجيا التعدين

Biology of microorganisms
Biochemistry