Industrial Microbiology علم الأحياء المجهرية الصناعية

Industrial Microbiology: العلم التطبيقي الذي يختص بدراسة الاستخدام الصناعي للأحياء المجهرية من خلال العمليات الايضية التي تقوم بها, وذلك لامتلاكها الانزيمات الضرورية لذلك وقد يتداخل هذا العلم مع علوم أخرى مثل العلوم الطبية والكيميائية والصناعية و غيرها..

Industrial Microorganisms (الأحياء المجهرية الصناعية) وهي الأحياء التي يمكن استخدامها في الصناعة بشكل اقتصادي بحيث تعطي ناتج (product) معين يتم الاستفادة منه وبذلك تؤدي غرضا اقتصاديا معين وبشكل لا يسبب خسارة للمصنع ....

المصادر .

*الحيدري. نظام عبد الأمير ولصلح. رشيد محبوب . (1989) الأحياء المجهريه الصناعية. مطابع التعليم العالي \جامعة الموصل.

الأسس التي تعتمد عليها التخمرات الصناعية :

هناك أربعة عوامل تؤثر بشكل مباشر في العمليات الصناعية هي:

1. المادة الأساس The substrate
2. الأحياء المجهرية Microorganisms ذات الاستخدامات الصناعية
3. ظروف النمو Conditions of Growth
4. النواتج The products

1. **المادة الأساس** : وهي المادة الأولية التي تستخدم في التخمرات الميكروبية وتقسم الى :

أ. المود الزراعية ومخلفاتها Agriculture materials & wastes
وتشمل الحبوب بأنواعها ومخلفاتها Grain waste والخشب wood والنباتات مثل البطاطا وغيرها وبقايا الفواكه (الحمضيات) ومخلفات صناعة العصائر .
يمكن تحليل وتكسير المواد السليلوزية الموجودة في هذه المواد باستخدام مواد كيماوية (كالحموض العضوية) او باستخدام الحرارة او الانزيمات مثل Cellulase

ب. المواد الأولية الصناعية ومخلفاتها Industrial materials & wastes: وتشمل
1. صناعة السكر ومخلفاته sugar industry & wastes: من مخلفات صناعة الدبس هناك مادة شبيهة بالدبس تحتوي (5%) سكر متحولSugar invert والذي يتكون من كلوكوز وفركتوز وتدعى بالمولاس (Molasses) وهي افضل مادة للتخمرات الصناعية.

$$\text{Sucrose} \xrightarrow[\text{Invertase}]{\text{Sucrase}} \text{Glucose + Fructose}$$

2. صناعة الألبان ومخلفاتها Dairy industry waste: ويطلق على تلك المخلفات بالشرش whey ويحوي (4-5) % سكر اللاكتوز و 50 % سكر متحول .

3. صناعة الورق Paper Industry: ومن مخلفاتها مادة Sulfite liquor

3. المواد الأولية البترولية Petroleum materials :
ومنها الكازولين , الميثانول ومخلفاتها مثل الميثان وال N-alkane.

الشروط الواجب توفرها في المواد الأولية :

1. ان تكون رخيصة الثمن
2. ان لا يكون لها تأثيرات سمية او جانبية
3. متوفرة بكثرة
4. قريبة من العامل التي تصنع فيها لغرض سهولة النقل

2. الأحياء المجهرية المستخدمة في التخمرات الصناعية : وتشمل Bacteria , yeasts , molds , Algae وقد يستخدم الكائن المجهري نفسه لإنتاج اكثر من مادة او يكون لهذا الكائن المجهري الصناعي تأثيرات سلبية تحت ظروف ووسط غذائي معين , لذا يجب الاهتمام بنقاوة الكائن المجهري وتوفير الظروف المناسبة للإنتاج.

الشروط الواجب توفرها بالأحياء المجهرية الصناعية:

1. سهلة الاستخدام ولا تحتاج الى مواد معقدة لنموها
2. ذات إنتاجية عالية
3. تكون غير منتجة للسموم
4. لا تتأثر بمكونات المواد المستخدمة في التخمرات الصناعية او بظروف التخمر خاصة ال pH

***أهم الأحياء المجهرية الصناعية:**

1. *البكتريا Bacteria: مثل Bacillus , Propionics , Lactics , Acetics , Clostridium, Coliform , Streptococci*

2. الاعفان Molds:مثل *Mucor , Rhizopus , Aspergillus, Penicillium* وغيرها.

3. الخمائر Yeasts: مثل *Debaromyces , Candida , Saccharomyces*

4. الطحالب Algae: مثل *Gaelidium , Chlorella*

3. ظروف او عوامل النمو : وتشمل 1. الأوكسجين 2. درجة الحرارة 3. الاس الهيدروجيني 4. الملح والسكر (التراكيز الذائبة في الوسط).

1. الأوكسجين O_2: من أهم العوامل التي تؤثر على التخمرات الصناعية , حيث على أساس وجود او عدم وجود O_2 يتم تقسيمها الى هوائية ولا هوائية anaerobic & aerobic لذا تكون كمية O_2 الداخلة للمخمرات ذات أهمية كبيرة في الصناعة لتحديد كمية ونوعية المنتوج , كما في انتاج انزيمات الاميليز والبروتيز اذ تستخدم بكتريا Bacillus نفسها في الإنتاج ولكن بظروف تهوية مختلفة...

2. الحرارة Temperature: عامل مهم في التخمرات الصناعية لان أي تغيير فيه يؤدي الى التأثير على الكائنات المجهرية والأنزيمات الخاصة بها . ويكون لارتفاع درجة الحرارة تأثيرات سلبية على النمو البكتيري إضافة الى الانخفاض فيها يكون ايضا له تأثير قاتل للأحياء المجهرية .

3. الاس الهيدروجيني pH:هو تركيز ايون الهيدروجين (H+)في الماده ويساوي (-LogH+) ويؤثر هذا العامل على التخمرات الصناعية لأنه يؤثر مباشرة على العمليات الايضية التي تتوسطها الانزيمات ويتم تنظيم ذلك أما باضافه مواد معادله للحموضة مثل (CaCo3)او استخدام احياء مجهريه متحملة للحموضة ألعالية

4-المواد المذابة في الوسط :تستند هذه على أساسين هما :-
1-البلزمة plasmolysis
2-الضغط الازموزي Osmotic pressure

لذلك يجب معرفه تركيز الماده المضافة (المواد الذائبة)لان اي ارتفاع او انخفاض فيها يؤثر سلبيا على الأحياء المجهريه الصناعية وتؤثر هذه المواد ألذاتيه على النشاط المائي (aw)الخاص بالأحياء المجهريه

4-النواتج products:-يقصد بها المواد الناتجة بعد التخمير و إدخال الكائن المجهري للعملية الصناعية ويكون بشكل ماده خام (crude)التي تحتاج الى عمليات استخلاصExtraction وتنقيه Purification ومن هذه النواتج :-

1-المواد العلاجية Chemotherapeutic agents:- وأهمها المضادات الحياتيه و الستيرويدات
2-المنتجات الكحولية Alcoholic products:-وتشمل انتاج الايثانول والبيرة والنبيذ
3-المنتجات الغذائية Food products:-مثل Single Cell Protein (scp) وCheese
4-المواد الكيمائية التجارية Commercial Chemical agents وتشمل
A-الأحماض العضوية Organic acids:مثل butyric acid ,citric acid ,lactic acidوغيرها....
B-الانزيمات Enzymes:مثل Invertase ,Cellulases ,Proteases, Amylases
C-الفيتامينات vitaminsمثل B12 , Cobalamin الخ ....
D-الأحماض الامينية amino acidمثل Alanine ,Lysine وغيرها ....
E-الدهون lipids:مثل الكليسيرول glycerol

مصطلح البادئ Starter:

او قد تسمى Inoculums او Cultures ولكن لكل منها استخدامات مختلفة . يقصد بالبادئ الكائن الحي المجهري الذي يكون أما مفردا او اكثر محفوظ او نامي في وسط غذائي معين وتحت ظروف معينه وتكون هذه المزارع المجهريه أما نقيه pure cultures او تسمى single strain cultureاو مكون من اكثر من نوع واحد وتسمى multi strain او مكون من نوعين double strainاو خليط منها وتسمى mixed cultures وهناك مزارع أوليه primary او بالاستخدام الدائم working cultures ومنها يمكن حفظ المزارع كخزين للاستخدام الدائم وتسمى Stock cultures

عزل سلالات المجهريه الصناعية :

تعد هذه العملية أول مرحله من مراحل استخدام الأحياء المجهريه في الإنتاج الصناعي ويشمل العزل الحصول على المزارع نقيه او مختلطة ثم إخضاعها لاختبارات لمعرفه أي منها يقوم بإنتاج المنتج المطلوب .

العوامل التي تتحكم في العزل والانتخاب :-

1-المتطلبات التغذويه للأحياء المجهريه الصناعية :-
حيث يراعى حاجه الكائن المجهري في أوساط التنمية الى وجود مصادر كاربونيه ونتروجينيه خاصة ومدعمات نمو لغرض النمو والإنتاج
2-درجه ألحرارة :
وتكون الدرجة الحرارية المثلى للحضن في التخمرات الصناعية خاصة بكل نوع مجهري حيث يفضل استعمال سلالات ذات درجه حرارة مثلى اكثر من 40 م لغرض تقليل كلفه التبريد أثناء التخمير والذي له فائدة اقتصاديه على المستوى الإنتاجي .
3-توفير الظروف البيئية الملائمة للعزل والتنمية:
والتي تكون نفسها في حاله تنميه السلالات على المستوى الإنتاجي .
4-التأكد من الاستقرار الوراثي للسلالات المعزولة وقابلية التطويع الوراثي
5-التأكد من الانتاجيه العالية للسلالات :
(وتحسب من خلال القابلية على تحويل الماده الأساس الى المنتوج في وحده الزمن)
6-سهوله استخلاص وتنقيه المنتوج من المزرعة.

يتطلب عمليه العزل معرفه طبيعة الكائن المجهري وطبيعة الماده المراد إنتاجها وهل ان الغرض من العزل هو تطوير صناعه تخميريه قائمه او اكتشاف أخرى .

طرق العزل

1. العزل بالأطباق Plating وتشمل
- طريقة النشر Spreading
-طريقة التخطيط على أطباق Streaking
- طريقة الصب بالأطباق Pour – plate
- الأطباق المزدحمة The crowded plate لمعرفه ال Microorganisms المنتجة للمضادات الحياتيه.
- Auxanography لعزل M.O. المنتجة لعوامل النمو.
2. طريقة المزرعة السائله المغناة Enrichment liquid culture
3. طريقة التخفيف بالأنابيب Dilution وتستخدم لعزل والعد البكتيري.
4. عزل خليه مفردة single cell isolation وفيها يستخدم جهاز خاص يسمى Micromanipulator في بحوث الخمائر.

*** طرق حفظ المزارع البكتيرية .**

1. Slants: وهو وسط زرعي يتصلب بشكل مائل لزيادة المساحة السطحية للمزرعة وهي رخيصة
2. Broth: وتستخدم المزارع السائلة وهي رخيصة وسريعة وكفوءة ولكنها غير دقيقه ألا ان جفاف الوسط يؤدي الى تركيز المواد وقتل السلالة.
3. Oil-overlay: طريقة تستخدم فيها مزارع صلبه او سائله مع إضافة الزيت فوق المزرعة وذلك لضمان عدم دخول الهواء وحصول تلوث وأيضا لكي لا يسمح بتبخر وجفاف الوسط ومن الزيوت المستخدمة هو الكليسيرول والبارافين السائل.
4. Soil : قد تستخدم التربة في عمليه الحفظ وخاصة ال M.O. المكونة للسبورات
5. Freezing:يكون التجميد جيد ولكنه قد يؤثر على النمو للأحياء المجهريه ويتم في درجة حرارة (18-)م
6. Freezing drying : وهي طريقة تجميد وتجفيف وبدون المرور بالحالة السائلة

* الاسترجاع Recovery

ان نجاح طريقه حفظ السلالات تعتمد على كفاءة الاسترجاع بعد عملية الحفظ. وهناك بعض النواحي التي يجب مراعاتها أثناء عمليه الاسترجاع ومنها:

1. تذوب النماذج المجمدة بسرعة لتلافي الضرر للخلايا وقد يؤخذ جزء من سطح المزرعة المجمدة تم يعاد النموذج للتجميد.
2. تعليق الخلايا في وسط مناسب
3. تنمية الخلايا في وسط زرعي مناسب من الناحية الغذائية والضغط الازموزي.
4. درجة الحرارة يجب ان تكون ملائمة لنمو الكائن
5. تهوية المزرعة بشكل جيد ما لم يكن للأوكسجين فعل تثبيطي على الخلايا .
6. بعد الاسترجاع تجرى الفحوصات اللازمة للتأكد من نقاوة المزرعة ومعرفه العدد الحي للخلايا
7. التأكد من احتفاظ السلالات بالصفات المطلوبة كالصفات المناعية بالنسبة للخلايا التي تستعمل لإنتاج اللقاحات , او معرفة صفات الخمائر المنتجة للكحول وغير ذلك.

بنوك حفظ السلالات الميكروبية :

هناك بنوك متخصصة لحفظ السلالات الميكروبية وبيعها , وتكون هذه البنوك في دول عديدة ومنها :

-American Type culture collection (ATCC) , U.S.A.(All Microorganisms)

-North Research Regional Lab.(NRRL) In U.S.A (All M.O)

-Institute of Applied Microbiology , Japan (All M.O).

-National Collection of Industrial Bacteria , UK. (All Bacteria)

-Common Wealth Mycological Institute , U.K. (All Fungi).

انواع المزارع الميكروبية :

1. مزرعة الدفعة Batch culture او النظام المغلق Closed system وفي هذه المزارع لايضاف وسط جديد Fresh medium خلال عملية التحضينIncubation وعليه فان مستوى المغذيات Nutrients سوف يتناقص وكذلك المخلفات سوف تزداد لذلك تظهر ضمن منحنى النمو growth curve أربعه مراحل هي:
   1. طور الركود Lag phase
   2. طور النمو اللوغارتمي Log phase
   3. طور الثبوت العددي Stationary phase
   4. طور الهلاك Death phase

- المزارع المستمرة للأحياء المجهرية Continuous Culture of M.O

في هذه المزارع نحصل على خلايا بكتيرية دائما في طور النمو اللوغارتمي , وهي عكس مزرعة الدفعة. يضاف الوسط الغذائي ويسحب جزء مساوي له من حجم المزرعة بصورة مستمرة وبذلك نستفيد منه للحصول على حاصل (ناتج) yield

M1= كتله الخلايا عند التلقيح
M2= كتله الخلايا في بداية طور الثبات
S= المادة الأساس

M2 –M1

$$Yield = \frac{\longrightarrow}{S}$$

أنظمة الحصول على المزارع المستمرة

1. المنظم الكيميائي Chemostate :
مبدأ هذا الجهاز يعتمد على الربط بين كمية المادة الأساس ومعدل النمو , كما هو معروف ان سرعة النمو تزداد بزيادة المادة الأساس وهنا يكون عامل النمو المحدد هو احد مكونات الوسط الغذائي , عند سحب الوسط الزرعي القديم تكون المادة المحدد لنمو = صفر أي ان السحب يعتمد على نفاذ المادة المحددة للنمو من الوسط.

2. منظم العكورة Turbidostate: مبدأ الجهاز يعتمد على العكورة بدلاً من نفاذ المادة المحددة للنمو آذ يبقى تركيز الخلايا ثابت في المزرعة وذلك بالسيطرة على جريان الوسط الغذائي الى داخل المخمر تبقى عكارة المزرعة في حدود معينة ويمكن الوصول الى هذه الحالة عن طريق استخدام خلية ضوئية كهربائية تعطي إشارة الى المضخة الخاصة بتجهيز الوسط الغذائي بحيث تفتح المضخة آذ تجاوزت الكتلة الحيوية الحد المثبت وتغلق آذ كانت الخلايا اقل الحد المثبت.

3. المنظم الحيوي Biostate: يقاس تركيز الكتلة الحيوية بمقدار CO_2 الناتج ويقوم على أساس انه عندما تتكون أقصى كمية من الكتلة الحيوية تصل كمية CO_2 الى أقصاها وعندها يتم سحب المنتوج وأضافه وسط غذائي جديد.

*تعد طريقة المنظم الكيميائي أكثرها شيوعا لأنها تتميز بعدم حاجتها الى أجهزة سيطرة معقدة كما في حالة المنظم الحيوي