Industrial Microbiology

العلم الذي يهتم بدراسة الأحياء التي تؤدي وظائف صناعية من خلال العمليأت الايضيةٌ التي تقوم بها مثل تعدين المعادن وإنتاج أنواع مختلفة من المواد كالمضادات الحيوية والأنزيمات الصناعية سواء بكتيرية أو فطرية أو فيروسية كما أنه يهتم بدراسة المواد العضوية كالأحماض وغيرها ويتناول العلم دراسة التخمرات التي تؤدي إلى إنتاج الأغذية أو استعمال الأحياء المجهرية لإنتاج المواد الغذائية المباشرة مثل العرهون والكمأ Truffles والكتلة الحيوية ، وإنتاج الحوامض الأمينية والنيوكلوتيدات ومواد النكهة من الأحياء المجهرية، وبطبيعة الحال تلحق بهذه الفعاليات ما يسندها من دراسة لعمليات العزل والتنقية والتنمية وتصميم الأوساط الغذائية وبناء المخمرات وعمليات الفصل بعد انتهاء عملية التخمر وقد تداخل هذاالعلم مع علوم أخرى مثل العلوم الطبيةٌ والكيمياء والصناعة و غيرها..

Industrial Microorganisms

(الأحياء المجهر يةٌ الصناعيةٌ) وهي الأحياء التي يمُكن استخدامها في الصناعة بشكل اقتصادي بحيث تعطي ناتج (product) معين يتم الاستفادة منه وبذلك تؤدي غرضا اقتصاد ياٌ معين وبشكل لا يسٌبب خسارة للمصنع .....

الأسس التي تعتمد عليها التخمرات انصناعية:

هناك أربعة عوامل تؤثر بشكل مباشر في العمليات الصناعية

1- المادة الأساسThe substrate

هي المادة الأولية التي تستخدم في التخمرات المايكروبية وتقسم الى:

أ .**المواد الزراعيةٌ ومخلفاتها Agriculture materials & wastes** وتشمل الحبوب بأنواعها ومخلفاتها Grain waste والخشب wood والنباتات مثل البطاطا وغيرها وبقايا الفواكه (الحمضيات) ومخلفات صناعة العصائر.

مُكن تحول وتكسر المواد السليولٌوزيةٌ الموجودة في هذه المواد باستخدام مواد كيمياوية (كالحوامض العضوية)

او باستخدام الحرارة او الانزيمات مثلCellulase

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 متحول Sugar invert والذي تٌكون من كلوكوز وفركتوز وتدعى بالمولاس (Molasses)وه افضل مادة للتخمرات الصناعية.

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

.2صناعة الألبان ومخلفاتها : Dairy industry waste و يطُلق على تلك المخلفات بالشرشwhey ويحتوي % (4-5) سكر اللاكتوز و % 55 سكر متحول.

.3صناعة الورق : Paper Industry ومن مخلفاتها مادةSulfite liquor
.3المواد الأولية البترولية: Petroleum materials
ومنها الكازولين, الميثانول ومخلفاتها مثل الميثان وال. N-alkane
انشروط الواجب توفرها في المواد الاولية:
1 .ان تكون رخيصة الثمن
2. ان لاتكون لها تأثيرات سمية او جانبية
3 .متوفرة بكثرة
4. قريبة من المعامل التي تصنع فيها لغرض سهولة النقل

2- الأحياء المجهرية Microorganisms ذات الاستخدامات الصناعيةٌ: الأحياء المجهرية المستخدمة في التخمرات الصناعية :وتشمل , Bacteria , yeasts , molds Algaeوقد تستُخدم الكائن المجهري نفسه لإنتاج اكثر من مادة اويكُون لهذا الكائن المجهري الصناعي تأثيرٌات سلبية تحت ظروف ووسط غذائي معين , لذا يجب الاهتمام بنقاوة الكائن المجهري وتوفر الظروف المناسبة للإنتاج.

3- ظروف النموConditions of Growth
وتشمل .1 الأوكسجين .2 درجة الحرارة .3 الاس.4 الهيدروجيني 5 .الملح والسكر (التراكيز الذائبة في الوسط.)

1. الأوكسجين O2 :من أهم العوامل التي تؤثر على التخمرات الصناعية ,حيث على أساس وجود او عدم وجود O2 تُم تقسيمها الى هوائيةٌ ولا هوائية & anaerobic aerobicلذا تكون كمية O2 الداخلة للمخمرات ذات أهمية كبيرة في الصناعة لتحد دٌ كميةٌ ونوعيةٌ المنتوج , كما في انتاج انز يمات الاميليز والبروتييزاذ تستخدم بكتريا Bacillusنفسها في الإنتاج ولكن بظروف تهويةٌ مختلفة...

2.الحرارة Temperature :عامل مهم في التخمرات الصناعية لان أي تغير في درجة الحرارة يوءدي الى التأثيرٌ على
الكائنات المجهرية والأنزيمات الخاصة بها . و يكون لارتفاع درجة الحرارة تأثيرات سلبية على النمو البكتيري إضافة الى الانخفاض فبها يكون ايضا له تأثيرٌ قاتل للأحياء المجهرية.

3.الاس الهيدروجيني pH :هو تركيز ايون الهيدروجين(H+) في الماده وويساوي-(LogH+)ويؤثرهذا 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 مجهريةٌ متحملة للحموضة ألعالية

4. المواد المذابة في الوسط: تستند هذه على أساسين هما
1-البلزمةplasmolysis
2-الضغط الازموزيOsmotic pressure

لذلك يجب معرفه تركيز الماده المضافة(المواد الذائبة) لان اي ارتفاع او انخفاض فيها يؤثر سلباً على الأحياءالمجهرية الصناعية وتؤثر هذه المواد الذاتية على النشاط المائي (aw)الخاص بالأحياءالمجهرية

4- النواتجThe products

يقصد بها المواد الناتجة بعد التخمر و إدخال الكائن المجهري للعمليات الصناعية و يكون بشكل ماده خام (crude) التي تحتاج الى عمليات استخلاص Extraction وتنقيةٌ Purificationومن هذه النواتج:-

1المواد العلاجية :- Chemotherapeutic agents وأهمها المضادات الحياتية و الستيرويدات

2المنتجات الكحولية Alcoholic products :- وتشمل انتاج الايثانول والبيرة والنبيذ

3المنتجات الغذائيةٌ Food products :- مثل Single Cell Protein (scp) و Cheese

4المواد الكيميائية التجارية:- Commercial Chemical agents وتشمل

A- الأحماض العضوية Organic acids :- مثل lactic acid ,citric acid ,butyric acidوغيرها....

B-الانزيمات:- Enzymes مثلProteases, Amylases ,Cellulases ,Invertase

C- الفيتامينات vitamins - مثل B12 , Cobalamin الخ....

D- الأحماض الأمينية amino acid : مثل Lysine ,Alanine وغيرها....

E- الدهونlipids :- مثل الكليسيرول glycerol

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 الpH

***أهم الأحياء انمجهرية انصناعية:**

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*

البادئ Starter :-
يقصد بالبادئ الكائن الحي المجهري الذي يكون أما مفردا او اكثر محفوظ او نامي في وسط غذائي معين وتحت ظروف معينة وتكون هذه المزارع المجهرية أما نقية pure cultures او تسمى single strain culture او مكونة من اكثر من نوع واحد وتسمى multi strain او مكونة من نوعين double strain او خليط منها وتسمى mixed cultures وهناك مزارع أوليةٌ primary او بالاستخدام الدائم working cultures ومنها يمكن حفظ المزارع كخز نٌ للاستخدام الدائم وتسمى Stock cultures

عزل سلالات الاحياء المجهرية الصناعية:
تعد هذه العملية أول مرحله من مراحل استخدام الأحياء المجهرية في الإنتاج الصناعي وتشمل العزل الحصول على المزارع نقية او مختلطة ثم إخضاعها لاختبارات لمعرفه أي منها يقوم بإنتاج المنتج المطلوب.

العوامل التي تتحكم في انعزل والانتخاب :-
1- المتطلبات التغذوية للأحياء المجهرية الصناعية حيث يُراعى حاجه الكائن المجهري في أوساط التنمية الى وجود مصادر كاربونية ونتروجينية خاصة ومدعمات نمو لغرض النمو والإنتاج

2- درجه ألحرارة : وتكون درجة الحرار ةٌ المثلى للحضن في التخمرات الصناعية خاصة بكل نوع مجهري حيث يُفضل استعمال سلالات ذات درجه حرارة مثلى اكثر من 45 م لغرض تقليل كلفه التبريد أثناء التخمر والذي له فائدة اقتصاديةعلى المستوى الإنتاجي.

3- توفير الظروف البيئية الملائمة للعزل والتنمية:- والتي تكون نفسها في حالة تنمية السلالات على مستوى الإنتاج.
4- التأكد من الاستقرار الوراثي للسلالات المعزولة وقابلية التطوع الوراثي

5- التأكد من الانتاجية العالية للسلالات :- وتحسب من خلال القابلية على تحول الماده الأساس الى المنتوج في وحده الزمن)

6- سهوله استخلاص وتنقية المنتوج من المزرعة.

تتطلب عملية العزل معرفه طبيعة الكائن المجهري وطبيعة الماده المراد إنتاجها وهل ان الغرض من العزل هو تطوير صناعة تخمرية قائمة او اكتشاف أخرى.

طرق انعزل

1.العزل بالأطباق Plating وتشمل:

- طريقة النشرSpreading
- طريقة التخطيط على ألأطباقStreaking
- طريقة الصب بالأطباقPour – plate
- الأطباق المزدحمة The crowded plate لمعرفه ال Microorganisms المنتجة للمضادات الحياتية.
- Auxanography لعزل M.O. المنتجة لعوامل النمو.

2- طريقة المزرعة السائله المغناةEnrichment liquid culture

3-طريقة التخافيف بالأنابيب Dilution وتستخدم لعزل والعد البكتيري.

4-عزل خلية مفردة single cell isolation وفيها يُستخدم جهاز خاص يُسمى Micromanipulator في بحوث الخمائر.

طرق حفظ انمزارع البكتيرية.

1- Slants : وهو وسط زرعي يتصلب بشكل مائل لزيادة المساحة السطحية للمزرعة وتكون هذه الاوساط رخيصة

2- Broth:- وتستخدم المزارع السائلة وهي رخيصة وسر يعة وكفوءة ولكنها غير دقيقة ألا ان جفاف الوسط يؤدي الى تركيز المواد وقتل السلالة.

3 -Oil-overlay:- هذه الطريقة تستخدم فيها مزارع صلبة او سائلة مع إضافة الزيت فوق المزرعة وذلك لضمان عدم دخول الهواء وحصول تلوث وأ ضافة لذلك لا تسمح بتبخر وجفاف الوسط ومن الزيوت المستخدمة هوالكليسيرول والبارافين السائل.

4 - Soil :- قد تستخدم التربة في عملية الحفظ وخاصة ال M.O. المكونة للسبورات

5 - Freezing :- يكون التجميد جيد ولكنه قديؤثرعلى النمو للأحياء المجهرية ويتم في درجة حرارة (- 18 م)

6 - Freezing drying :- وهي طريقة تجميد وتج فيف وبدون المرور بالحالة السائلة

الاسترجاعRecovery

ان نجاح طريقة حفظ السلالات تعتمد على كفاءة الاسترجاع بعد عمليةالحفظ .وهناك بعض النواحي الواجب مراعاتها أثناء عملية الاسترجاع ومنها:

1- تذوب النماذج المجمدة بسرعة لتلاف الضرر للخلا يا وقد يؤخذ جزء من سطح المزرعة المجمدة تم اعادة النموذج للتجميد.
2- تعليق الخلايا في وسط مناسب
3- تنمية الخلايا في وسط زرعي مناسب من الناحية الغذائية والضغط الازموزي.
4- درجة الحرارةيجب ان تكون ملائمة لنمو الكائن
5- تهوية المزرعة بشكل جيد ما لم يكن للأوكسجين فعل تثبيط 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.

بنك حفظ السلالات انميكروبية:
هناك بنوك متخصصة لحفظ السلالاث 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 انمزارع انميكروبية:
1-مزرعة الدفعة Batch culture او النظام المغلق Closed system وفي هذه المزارع لايضاف وسط جديد Fresh medium خلال عملية التحضين Incubation وعليه فان مستوى المغذ ياتNutrients سوف تتناقص وكذلك المخلفات سوف تزداد لذلك تظهر ضمن منحنى النمو growth curve أربعه مراحل هي:-

A-طور الركودLag phase :

- هي المرحلة الأولى.
- لا توجد زيادة في عدد الخلايا
- خلايا تكون نشطة أيضيا وتستعد لعمية الانقسام.
- قد تكونه هذه المرحة قصيرة أو طويلة جداً، وفقا لوسط النمو.

2- طور النمو اللوغارتمLog phase :

- هي المرحلة الثانية في منحنى النمو البكتيري.

- تسمى مرحلة النمو الاسي أو اللوغاريتمي.
- في هذه المرحلة يكون نمو الخلايا سريعا والتضاعف في عدد الخلايا يكون بمعدل ثابت.
- إن الزمن الذي تؤخذه للتضاعف يسمى زمن التوالد (زمن الجيل).
- زمن التوالد يعتمد على عدة عوامل وهي

1-الكائن الحي 2- وسط النمو 3- درجة الحرارة

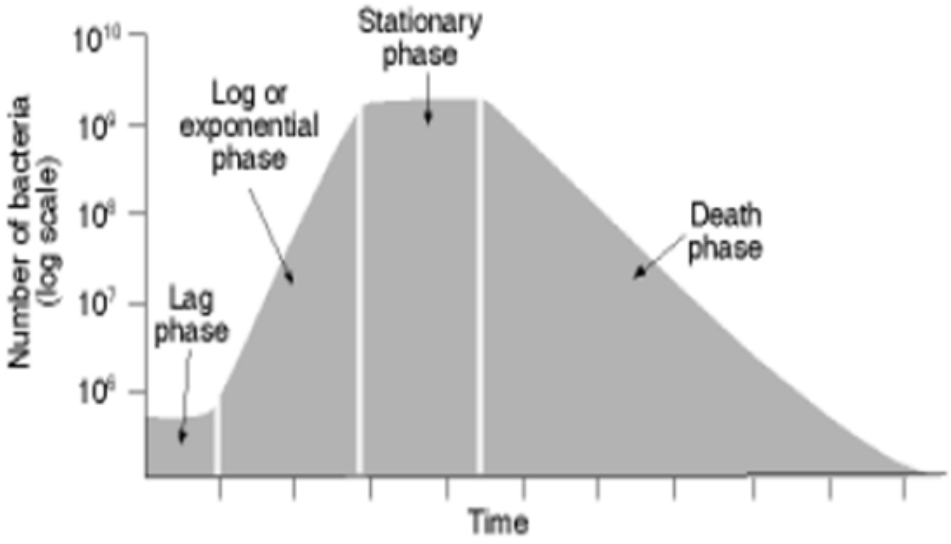
3- طور الثبوت العددي (الثبات) Stationary phase

- هي المرحلة الثالثة من منحى النمو
- يكون فيها العمليات الايضية بطيئة
- تتوقف الخلايا عن الانقسام السريع بسب:

1- كثافة الخلايا مرتفعة 2- تستنفذ المغذيات 3- تراكم النفايات او السموم

4- طور الهلاك او الموت Death phase

- هي المرحلة الاخيرة من منحنى النمو البكتيري
- تفقد الخلايا القدرة على الانقسام
- الموت الاسي (السريع)



المزارع المستمرة للأحياء المجهر ية Continuous Culture of M.O

في هذه المزارع نحصل على خلايا بكتيرية دائما في طور النمو اللوغارتمي , وهو عكس مزرعة الدفعة. يضاف الوسط الغذائي ويُسحب جزء مساوي له من حجم المزرعة بصورة مستمرة وبذلك نستفاد منه للحصول على حاصل(ناتجyield)

المزارع التي يتم فيها النمو تحت ظروف محددة ومسيطر عليها، وفيها يتم إدخال سيل محدد من الأوساط الغذائية المعقمة وسحب وسط التخمر مع الخلايا بالمعدل نفسه أو بمعدلات تعتمد على نوعية المواد المراد إنتاجها وبذلك تبقى الخلايا في طور محدد من النمو مثل الطور اللوغاريتمي.

ويمكن أن تتم هذه العمليات باستعمال جهاز المنظم الكيماوي Chemostat وتحتاج الحالة إلى عمليات خلط جيدة وكفوءة لضمان تلامس المواد الجديدة المضافة مع الخلايا المنتجة، وتطبيق مثل هذه الظروف يؤدي إلى جعل المزارع في الطور اللوغاريتمي أي تكون الخلايا تحت ظروف النمو المتوازن والتي تهيأ الفرصة لدراسة عمليات أيض الأحياء المستعملة تحت ظروف ثابتة أي تكون تحت حالة مستمرة (Steady State) ويسمح في.
هذه المزارع للاحياء بالنمو تحت ظروف أقل من المثلى وذلك لميل الأحياء إلى عدم الثبوت تحت الظروف المثلى، وتتم السيطرة بتحديد تركيز المواد الأساسية للنمو في السيل الداخل إلى جهاز المنظم الكيماوي والذي يعتمد بدوره على معدل النمو.

.1المنظم 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 الزرع القديم تكون المادة المحدد لنمو = صفر أي ان السحب يعتمد على نفاذ المادة المحددة للنمو من الوسط تعد طر يقة المنظم الكيميائي أكثرها شيوعًا لأنها تتميز بعدم حاجتها الى أجهزة سيطرة معقدة.
.2منظم العكورة Turbidostate : مبدأ الجهاز يعتمد على العكورة بدلاً من نفاذ المادة المحددة للنمو آذ يبقى تركيزٌ الخلايا ثابت في المزرعة وذلك بالسيطرة على جريان الوسط الغذائي الى داخل المخمر فتبقى عكارة المزرعة في حدود معينة ويمكن الوصول الى هذه الحالة عن طريق استخدام خلية ضوئيةٌ كهربائية تعطي إشارة الى المضخة الخاصة بتجهيز الوسط الغذائي بحيث تفتح المضخة آذ تجاوزت الكتلة الحيوية الحد المثبت وتغلق آذا كانت الخلاياٌ اقل من الحد المثبت.
.3المنظم الحيوي Biostate : يُقاس 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.

الاغذية المتخمرة fermented food:-

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

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

ويمكن تلخيص دور التخمر فى إنتاج الأغذية المتخمرة فيما يلى :

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

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

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

ويمكن تقسيم الأغذية المتخمرة إلى :

1- المشروبات الكحولية .

2- منتجات الخضر والفاكهة المتخمرة.

3- منتجات الحبوب المتخمرة.

4- منتجات اللحوم المتخمرة.

5- منتجات الأسماك المتخمرة.

6- البقوليات المتخمرة.

7- منتجات أخرى.