تخمير الاسيتون - بيوتانول

اكتشف البيوتانول العادى عام ١٨٥٢ بواسطة Wurtz كمكون في ال Fusel oil

- وكان باستير Pasteur أول من أظهر تكون هذا الكحول كناتج للتخمير.

- وان اول إنتاج تجارى ناجح كان فى انجلترا بواسطة مؤسسة strange-grahme عام ١٩١٣

بعد ذلك أقيمت مصانع في كندا وامريكا والهند وكان الهدف الاساسي هو انتاج الاسيتون لاستخدامة فى صناعة المفرقعات والاعراض الأخرى - مع انتهاء الحرب العالمية الأولى اغلقت هذه المصانع نتيجة عدم الحاجة الى الاستيون

- ولكن لم يمضى وقت طويل حتى ظهرت الحاجة الى كحول البيوتانول n-butanol لصناعة دهان السيارات ، ومن خلال عام ١٩١٩ نشرت ابحاثا من تخمرات الاسيتون - بيوتانول

اهم ما يراعى في الانتاج

1- **الميكروب المستخدم :**

هناك العديد من الميكروبات تاقادرة على انتاج البيتانول ولكن يعيب على الكثير فيها أنها غير متجرثمة أو ممرضة أو بطيئة النمو أو لا تستخدم النشا أو تحتاج الى الهواء أو ضعيفة النمو

وقد صنف Mecay ومساعدوة سنة ١٩٣٠ بكتريا حمض البيوتريك واظهر منها مجموع تنتج حامض البيوتريك والخليك كنواتج وسيطة مؤدية الى ناتج نهائي طبيعي (كحول _ أو كحول + اسيتون) وأهم هذه البكتريا Clostridium acetobutylicum

2- **التزريع :**

وجد أن المزارع الاشد مقاومة للحرارة هي افضلها في الانتاج لذلك فان الصدمات الحرارية Heat chock تؤدى الى قتل الخلايا الخضرية والجراثيم الضعيفة ويتم ذلك بتعريض المزرعة التي اعطيت ظروفا ملائمة للتجرثم لمعادلة حرارية لمدة ١-٢ دقيقة على درجة 100م

من ذلك اتجهت الابحاث نحو تنشيط المزارع عن طريق تبادل التزريع بضعة أيام على درجة حرارة الغرفة لتشجيع التجرثم ثم المعادلة الحرارية ومن ثم تلقح بيئة جديدة من المزرعة المتجرثمة المنشطة حراريا - وتعطى فرصة لتلك الجراثيم التي احتفظت بحيويتها بعد الصدمة الحرارية للانبات تحت الظروف الملائمة ثم تنقل لعدة مرات subculturing كل ٢٤ ساعة لمدة ٤ - ٧ يوم فى نهاية تلك المدة تترق فترة على درجة حرارة الغرفة لتشجيع التجرثم تعاد هذه الدورة بالصدمة الحرارية ثم التزريع وهكذا - وقد وجد العالم وايزمان أن تعرض ١٥٠ مرة للصدمات الحرارية تحسن من كفاءتها التخميرية وذلك على المزرعة

3- الخامات المستخدمة

يمكن استخدام العديد من الخامات كمصدر للكربوهيدرات والمغذيات الاخرى فبالنسبة للمصادر النشوية مثل الذرة والارز تحول لحالة ذائبة بالاضافة الى نواتج تحلل النشا والسكريات الثنائية الهكسوزات والبنتوزات والمولاس والمحاليل السكرية كل ذلك يمكن استخدامة في التخمير.

ومن الضرورى اضافة البيوتن Biotin وحامض البارا امينوبنزويك فى صورة مستخلص خميرة أو غير ذلك من المصادر الغنية

وقد وجد Tatum ومساعدة (١٩٣٤) اهمية وجود الاسباراجين L-asparagine كمادة منشطة stimulating لنمو البكتريا ويوجد الاسباراجين من بعض المصادر الطبية مثل البطاطس والبطاطا والكرنب وفول الصويا والمولت الاخضر حيث تشجع على التخمر وتزيد من انتاج البيوتانول. كما وجد أن اضافة حامض Glutamic, Aspartic مع كبريتات الامونيوم تؤدى لتحليق الاسباراجين وفي وجود انزيم الاسباراجينيز ، مالات الامونيوم وسكسينات الأمونيوم لها ايضا تاثير منشط لبعض السلالات

4- **جهد الاكسدة والاختزال**

حيث أن الميكروبات الخاصة بالإنتاج لاهوائية لذلك فان توفير تلك الظروف anaerobic يساعد على زيادة الانتاج

5- **درجة الـ pH:**

يمكن للميكروب النمو فى ماش ذرة عند pH من ٤.٧ - ٨ ولكن لإنتاج المذيبات فان انسب pH هو ٥ - ٧

6- **تاثير كربونات الكالسيوم :**

اضافتها تؤدى الى انخفاض في انتاج الاستيون والبيوتانول كلما زاد التركيز المضاف فهى تشجيع انتاج حمض البيوتريك والخليك وتثبط انتاج المذيبات

٧ – تركيز الخامات :

يمكن الوصول للتركيز المناسب بالتجربة فالنسبة متفاوتة من ٣ – ١٠ %

-الميكروبات الملوثة :

اخطر ميكروبات التلوث هي بكتريا حامض اللاكتيك التى يمكنها النمو على درجات الحرارة وتحت الظروف اللاهوائية التى يتم عندها التخمير المرغوب و هذه البكتريا تستهلك الكربوهيدرات من البيئة وتغير من ال pH إلي قيمة لا تلائم انتاج البيوتانول – واكثر الانواع خطورة هي المنتجه للحامض بتركيز مرتفع مثل Streptococcus lactis وقد توجد بكتريا منتجة لصبغه حمراء في ماش الذرة مثل *Bacillus mesentericus*

ومن أهم طرق الكشف عن وجود التلوث

١ - تتبع انتاج الغاز الذى له معدل متغير معروف فإذا حدث اختلال في سر. عة أى قل انتاجه في المرحله التي يتوقع فيها زيادة معدله كان ذلك دلاله على التلوث

خروجه.

٢ – ملاحظة منحني انتاج الحموضة : فالمعتاد أنه يرتفع إلي اقصي معدل بين ١٣ – ١٧ ساعة ثم يبدأ في الهبوط بنفس السرعة . بينما في حالة حدوث تلوث ببكتريا حامض اللاكتيك فان منحني الحموضة يرتفع عن القيمة التي وصل اليها في التخمر العادي بدلا من التحول إلى الانخفاض

النواتج الطبيعية لتخمر الاسيتون بيوتانول هي :

المذيبات الطبيعية

- الاحماض

- الغازات

. اسيتون - بيوتانول – ايثانول

فورميك – استيك – بيوتريك

الهيدروجين – ثاني أكسيد الكربون

- الزيت الاصفر .Yellow oil

- *ويمكن الحصول علي رطل من مزيج المذيبات / لكل ٣ رطل نشا من تخمير Clostridium acetobutylicum*

تزن الغازات المنتجة أكثر من ١,٥ مره وزن المذيبات الطبيعية المتكونة ، لذا وجب الاستفادة منها خفضا للتكاليف

- وينتج عادة ٣٠٠ – ٤٠٠ مجم اسيتون لكل لتر من بيئة التخمر البيوتانول

- الزيت الأصفر يكون حوالي ٢٠٥% من الانتاج الكلي للمذيبات وهو يتركب من كحولات عاليه اساسا الأميل وبيوتانول والايزو أميل- وكذلك استرات الاحماض الكابرك و الكابرلك

الانتاج الصناعي من المولاس

بالاضافة إلي ما سبق من نقاط اساسية خاصة ما يتعلق بنوع الميكروب المستخدم ، نجد ان هناك اختلافا في الاحتياجات الغذائيه خلاف السكر حيث:

- يضاف النيتروجين علي صورة نواتج تحلل البروتين مثل البولي ببتيدات ، والاحماض الامينية ، والامونيا واملاح الامونيوم ، كما يستخدم سائل نقيع الذرة Corn steep liquor وماء الخميرة ومتخلفات التقطير

- اذا كان الماش فقير فى الفوسفور فيمكن توفيره بإضافة فوسفات الكالسيوم الحامضيه ، أو فوسفات الامونيوم الاحاديه ، أو أي فوسفات ذائبه اخري بتركيز يعادل ٠,٢ إلي ٠,٤

تحضير البادئ : - تضاف الجراثيم إلي انبوبة محتويه علي بيئة جلوكوز البطاطس Potato glucose وتوضع الانبوبه في ماء يغلي لمدة ٩٠ ث تبرد مباشرة إلي ٨٧ف وتحضن لمدة ٢٠ – ٢٤ ساعة علي تلك الدرجة

- تستخدم هذه المزرعه لتلقيح ٦٠٠ مل من بيئه تحتوي علي 4% سكر (مولاس أوسكر محول) وكذلك ٥% فوسفات امونيوم ٦% كربونات كالسيوم ٢، حامض أكسيد الفوسفور محسوبة علي اساس وزن السكر في المولاس

- بعد التحضين لمدة ٢٠ – ٢٤ ساعة تستخدم هذه المزرعة الاخيرة لتلقيح 3 لتر من نفس التركيب في دورق 4 لتر ومنه إلي ٤٠٠٠ جالون ماش ٦% سكر

- بعد الاطمئنان لعدم وجود تلوث وسير التخمر بصورة عادية في المراحل السابقة تمزج محتويات التنك اليا لمدة ٥ ق بعد اضافة البادئ مع توفير جو من غازات التخمر المعقمه لتعطي ضغطا فوق البيئة يعادل ١٥ رطل للوصول الي ظروف لاهوائية ومنع دخول أي عوامل تلوث

- يحافظ على درجة الحرارة أثناء التخمر عند ٨٧ ف بأمرار تيار من الماء او البخار حسب الحاجة في التانك

- وأثناء المراحل الأولى لأكثار الخلايا والتخمر يلاحظ درجة تركيز السكر (البركس) والـ pH والحموضة المعايرة لماش ، وعندما تصل الحموضة الى اعلى قيمة لها وتبدا في الانخفاض تصبح معدة للاستخدام كبادئ لتلقيح صهريج التخمر الاساسي ذو السعة ٦٠ ٥٠٠ ألف جالون

ظروف التخمر :

غالبا يجرى إضافة البادئ ثم يتبعه بالماش جمعيه اوقد يوضع كل البادئ ثم يضاف جزء من الماش وبعد بضع ساعات من نشاط التخمر يضاف باقي الماش

- درجة الحرارة المثلى للتخمر هي ٨٦ف

- درجة الـ pH يتراوح بين ٥-٧ حيث في البداية ٥.٥ - ٦.٥ وفي النهاية ٥.٥ – ٦.٢

التخمر لا هوائئ فمن المفصل المحافظة علي غاز Co2 تحت ضغط حتي تبدأ البكتريا في بناء الضغط ذاتيا من انتاجها الغازي .وعندما تضاف الامونيا للماش المتخمر فعادة تضاف علي دفعات خلال فترة ١٨ – ٢٤ ساعة ففي تانك سعة ..... ٢٠٠ جالون

يضاف ٧٠ جالون) ٢٨٪) في الساعة الاولي وعند الساعة العاشرة يضاف ٣٠ جالون وعند الساعة الثانية عشر يضاف ٣٠ جالون ثم تتزايد الدفعات حتي تصل ١٦٠ جالون بعد٢٤ ساعة

النشاط الميكروبي أثناء التخمر:

قسم Speakman (1920) تخمير الاسيتون بيوتانول إلي ٣ مراحل وحدد كل مرحلة على اساس الحموضة الكلية المعايرة

المرحلة الأولى :

وفيها تزداد الحموضة الكلية إلي اقصي درجة ، وعادة يتم ذلك في مدة ١٣ – ١٧ ساعة حيث تتكاثر ميكروبات البيوتانول بسرعة حيث أن نشاطها الانزيمي هو العامل المهم في تقدم التخمر . وينتج حامض الخليك والبيوتريك بكميات متفاوتة وينتج غازي CO_2 ,H_2 بكميات كبيرة ويتبع منحني الغاز منحي الحموضة الكلية ولكن بفاصل زمني يحدث انخفاض في درجه pH الذي يميل لان يبقي ثابتا نوعا في المراحل التالية للتخمر نتيجة لوجود المواد المنظمة الناتجة من تحلل النشا والبروتين مائيا

المرحلة الثانية

وفيها يحدث انخفاض سريع في الحموضة الكلية إلي حوالي 50% من اقصي نسبة سبق الوصول إليها

ويحدث أثناء ذلك تحولا في الاحماض المتكونة إلي المذيبات) الاسيتون ، بيوتانول) فحامض يختزل كحول الخليك إلي الاسيتون تختلف نسبة حامض الخليك إلي البيوتريك أثناء هذه المرحلة ويلاحظ أن حامض البيوتريك يختفي بسرعة أكبر من الخليك ، وخروج الغاز ويزداد عة عكسية مع انخفاض الحموضة ثم يتناقص انتاج الغاز حتي نهاية التخمر

المرحلة الثالثة

وفيها تزداد الحموضة الكلية ببطء وتنخفض سرعة انتاج المذيبات حتي يتوقف التخمر ويستمر الاختلاف في نسبة كل من حامض الخليك والبيوتريك حتي قرب نهاية التخمر حيث تزداد

نسبة حامض الخليك

التعقيم :

يستخدم البخار لتعقيم الماش واوعية التخمر والمواسير وجميع المعدات الملامسة للبكتريا قبل اكتمال التخمر ويكون تعقيم الماش مستمرا فيسخن اولا لدرجه ٢٢٥ ف ثم يدار لمده ساعه في نظام ممتلئ

ثم يسحب باستمرار في حين يضاف ماش جديد لنظام أي تصبح العملية مستمرة ثم تنخفض درجة حرارة الماش إلي ٨٨ – ٩٠ ف