

## second lecture

## المحاضرة الثانية

### متطلبات التخمرات المايكروبية وتشمل ( الكائن المجهرى والمادة الاولية وظروف التخمر والنتاج )

#### THE USE OF THE WORD 'FERMENTATION' IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

ان كلمة التخمر جاءت من الكلمة اللاتينية *fevere* والتي تعني يغلي to boil وهي جاءت بالاصل من الغاز المنبعث والذي يتكون في بداية تخمر الكحول والذي يكون بشكل فقاعات والتي تنطلق بشكل مستمر للسطح اذ تعطي انطباع للغليان. ان المعنى الاول يرتبط بفلسفة الاحياء المجهرية microbial physiology وفي هذا المجال يعرف التخمر على انه نوع من الايض المايكروبي metabolism لمصادر الكربون والتي تتشكل الطاقة عن طريق فسفرة مواد الاساس substrate level phosphorylation وتكون المادة العضوية كمستلم نهائي للالكترونات والتي تتكون خلال تكسير المواد الكربونية او catabolism. وكما هو معروف فاذا كان المستقبل النهائي مادة عضوية فان العملية تسمى التنفس Respiration. في التنفس الهوائي يكون المستقبل النهائي الاوكسجين بينما في التنفس اللاهوائي يكون المستقبل النهائي مركبات غير عضوية اخرى غير الاوكسجين مثل الكبريتات او النترات.

الاستعمال الثاني لكلمة التخمر في الاحياء المجهرية الصناعية والذي يعرف التخمر هنا اي عملية تكون فيها الكائنات المجهرية قادرة على النمو بنطاق واسع حتى ولو كان المستقبل النهائي ليس مادة عضوية (حتى ولو كان النمو تحت الظروف الهوائية). وهكذا فان انتاج البنسلين ونمو خلايا الطحالب والاثنان تتطلب ظروف هوائية وانتاج الايثانول والمشروبات الكحولية وهما عمليات تخمر بالمعنى الفسيولوجي لكن كل تلك العمليات يشار لها على انها عمليات تخمر لاهوائية.

الاستعمال الثالث يتعلق بالغذاء اذ ان تخمر الغذاء والتي تلعب فيها الاحياء المجهرية دورا كبيرا. سوف تحدد الاحياء المجهرية طبيعة الغذاء من خلال مكونات النكهة وايضا تحديد الصفة العامة للغذاء ولكن الاحياء المجهرية تشكل جزء صغير جدا للنواتج النهائية من ناحية الوزن. انواع الاغذية المخمرة هي الجبن والخبز والالبان.

#### المواد الاولية

وسط التخمر يجب ان يكون من مواد كاربونية رخيصة ومصادر طاقة متوفرة ومغذيات اخرى ضرورية في عملية التخمر مع اختيار وسط التخمر الامثل كل هذه العوامل تعد جوانب حيوية لتطور عملية التخمر وبالتالي ضمان اكبر عائدات انتاجية وربحية كبيرة. وفي معظم الاحيان يكون وسط التخمر عبارة عن النفايات من عمليات صناعية اخرى لاسيما نفايات تصنيع السكر والنفايات النباتية الجافة ونفايات تصنيع الشرش والذرة.

#### مواد البناء لعملية التخمر

ان اصغر نموذج للمخمر fermenter يمكن ان يتكون ليس اكثر من خزان واحد مفتوح ومصنوع من الخشب و السمنت او الكربون الصلب carbon-steel في حال ان التلوث ليس مشكلة جدية وهذا النموذج لا يحتاج الى مخارج للحموضة العالية والسيطرة على الحرارة او ان الحرارة يسيطر عليها في المبنى نفسه الذي تجري فيه عملية التخمر. وهذا فان العديد من

مصانع البيرة تحتوي على مخمرات مفتوحة. على الرغم من انه ليس من المستبعد ان الخمائر والتي تستهلك من قبل حيوانات المزرعة ان تنمو في المخمر المفتوح فان التلوث الخطر والجدي يكون نادر الحدوث بسبب حموضة الوسط المستخدم في التخمر. وعلى كل حال فان بعض التخمرات تحتاج ظروف معقمة بشكل جيد اضافة الى نظم مغلقة للسيطرة على الظروف البيئية وهذا يتطلب مواد قادرة على تحمل التعقيم بالبخار بشكل دوري. اضافة الى ان الضغط الهيدروستاتيكي للحاجم الكبيرة من السوائل يكون هائل لذلك فان الفولاذ يستعمل بصورة طبيعية في المخمرات الانتاجية. اما المخمرات المستعملة في المختبر فغالبا ما تصنع من زجاج مقاوم للحرارة Pyrex لغرض مقاومة التعقيم بالاولتوكليف. عندما تكون المواد المخمرة هي مواد متأكلة كحامض الليمون يجب ان يكون المخمر مصنوع من الفولاذ. ان كميات صغيرة من المواد المصنوع منها المخمر سوف تذوب في وسط التخمر. بعض المواد مثل الحديد يمكن ان يمنع انتاجية الاحياء المجهرية في عمليات تخميرية محددة ولهذا السبب فان المخمر المصنوع من الكربون الصلب (المنيوم مع الكربون carbon-steel ) دائما ما يبطن بالزجاج او البلاستيك مثل الفينول الايبوكسي phenolicepoxy . والمواد المستخدمة في التبطين تعتمد على التاكل المتوقع في جدار المخمر بواسطة مكونات الوسط فالتبطين بالزجاج غالبا ما يستخدم فقط في حالة المخمرات الصغيرة بسبب الكلفة العالية للزجاج واحتمالية الكسر. ولغرض تجنب التلوث فان اوعية او قنوات جميع انواع المخمرات يجب ان تتعرض للحام خلال البناء. ويجب ان تكون اعمال اللحام بدون بروزات لتجنب تطور الكائنات باستخدام الكميات القليلة من الوسط القديم وايضا تكون تلك الاحياء محمية من التعقيم ويجب ان تصمم منافذ ومخارج المخمر بشكل لتكون ملساء ولازالة الجيوب والتي تكون صعبة في التعقيم.

### الكائن المجهرى The producer microorganism

النقاط المهمة في هذا الموضوع الانتقاء المبدئي للاحياء المجهرية المستخدمة في المجال الصناعي وتطوير السلالات لتحسين الانتاجية والاحتفاظ بنقاوة السلالات واعداد اللقاح الملائم واخير الاستمرار في تطوير السلالات المختارة لتحسين الكفاءة الاقتصادية لتلك العملية.

مثلا انتاج سلالات ثابتة التطفير والتي لها القدرة العالية لانتاج المواد المستهدفة يكون ضروري جدا غالبا وبعض النواتج المايكروبية هي نواتج ايضية اولية اي انها تنتج خلال النمو الفعّال trophophase وذلك يعني الاستهلاك السريع للمغذيات وبالتالي حدوث النمو والعديد من الخلايا الجديدة سوف تنتج وان معدل النمو يمكن مراقبته عن طريق حساب الخلايا او قياس الزيادة الحاصلة في مكونات الـ DNA ) وتشمل هذه النواتج الاحماض الامينية والاحماض العضوية والفيتامينات والمذيبات الصناعية مثل الكحولات والاسيتونات. وعلى كل حال فان معظم النواتج الصناعية المهمة هي نواتج ايضية ثانوية secondary metabolites والتي هي ليست ضرورية للنمو مثل المضادات الحياتية وملركبات نيتروجينية عضوية. وتلك المواد تنتج في طور الثبات idiophase (حالة النمو وزيادة انتاج المضادات الحياتية ويمكن مراقبته عن طريق نقصان بناء الـ RNA والهبوط في فعالية التنفس).

### صفات مهمة في المايكروب الذي يستخدم في مجال الاحياء المجهرية الصناعية

الاحياء المجهرية والتي تستخدم في الانتاج الصناعي يجب ان توافق احتياجات معينة ومن الضروري ان تلك الخصائص ان تكون في الاعتبار عند اختيار اي كائن لاستعماله في المجال الصناعي. ومن تلك الخصائص:

1- ان الكائن يجب ان يكون قادرا على النمو في الاوساط الزراعية البسيطة وان نموه تفضيلا لاحتاج لعوامل نمو (فيتامينات وحوامض ونيوكليوتيدات). ومن الواضح اضافة عوامل النمو الاضافية يمكن ان تزيد كلفة عملية التخمير وبالتالي النواتج النهائية.

2- يجب ان ينمو الكائن بسرعة وبقوة في الوسط المستعمل.

3- ليس فقط يجب على الكائن ان ينمو سريعا لكن يجب ان ينتج المواد المرغوبة بها سواءا اكانت تلك خلايا او نواتج افضية في وقت قصير.

4- نواتج الكائن النهائية يجب ان لا تحتوي على مواد سامة ومواد غير مرغوب فيها اخرى وخصوصا اذا كانت النواتج النهائية للاستهلاك الداخلي. الكائن يجب ان يملك عوامل وراثية معقولة وبالتالي الاستقرار الفسيولوجي. اي كائن يطفر بسهولة فهو عبارة عن خطر مكلف اذ ممكن ان ينتج نواتج غير مرغوب فيها اذا كانت الطفرة حدثت بصورة مخفية. وهذه النتيجة ممكن ان تساهم في اختزال النواتج للمواد المتوقعة وانتاج نواتج مختلفة بشكل تام او ان النواتج تكون سامة. ليس اي من تلك الاوضاع يساعد في انجاز الهدف من الصناعة والتي تسهم في زيادة الربح من خلال انتاج البضائع مع خواص متوقعة للمزاج المستهلك.

5- يجب ان يصلح الكائن لطريقة مناسبة لحصاد الناتج في نهاية التخمير. مثلا الخمائر والبكتريا اللذين يستخدمون بشكل متساوي لتصنيع نواتج محددة فمن الافضل استعمال الخمائر اذا كانت عملية الطرد المركزي هي الطريقة الملائمة لفصل النواتج وذلك لان قطر البكتريا  $1\mu$  بينما الخمائر قطرها  $5\mu$ . فرضيا فان كثافتهما متساويتين ولكن ترسيب الخمائر اسرع من ترسيب البكتريا ب 25 مرة وهكذا فان الترسيب الاسرع سوف ينتج في نفقات قليلة في من ناحية الادارة والاشراف على الموظفين الخ والتي تترجم الى ارباح عالية.

6- اينما كان ممكنا الكائن الحاوي على احتياجات فسيولوجية والتي تحمي الكائن ضد المنافسة من الملوثات يجب استخدامه. مثلا الكائن مع انتاجية مثلى على درجة حرارة عالية وقيم حموضة عالية او انه قادر على تثبيط المنافسين الاخرين فانه يحوي على ميزة حاسمة على الاخرين.

7- يجب ان يكون الكائن طبيعيا مقاوم للمفترسين مثل *Bdellovibrio* spp or bacteriophages .

8- يجب ان لا يكون الكائن على كثير الطلب للاوكسجين في التهوية والتي تساهم بحوالي 20% من تكاليف النواتج النهائية.

9- امينة وغير مرضية ويجب ان لا تنتج عوامل سامة مالم تكن تلك هي النواتج المستهدفة

10- واخيرا الكائن يجب ان يكون الى حد ما قابل وبسهولة للتحويل الوراثي لقدرة تاسيس السلالات مع خواص اكثر قبولا.

## تحسين السلالات

العمليات في المخمر يمكن تحسينها بواسطة استعمال وسط ذو انتاج عالي و ظروف بيئية جيدة والهندسة الوراثية الجيدة للسيطرة على العمليات في المخمر او انه ممكن ان يحسن وراثيا انتاجية السلالات المايكروبية المستعملة. جميع الخيارات المذكورة اعلاه تحسين السلالات تبدو ان تكون عامل مفرد مع امكانية كبيرة للاشتراك في الحصول على ربح كبير. السلالات الانتاجية العالية يمكن ان تحتاج تهوية كبيرة او تحتاج الى سيطرة كبيرة للرغوة الكثيفة والنواتج ممكن تشكل تحديات جديدة للاستخلاص او حتى تحتاج وسط تخمير جديد تماما. استعمال السلالات ذات الانتاجية العالية يجب ان يكون استعمالها مقارنة باحتمالا زيادة التكاليف الناتجة من الاستثمارات العالية في الاستخلاص والوسط الغني وعمليات المخمر ذات الكلفة العالية ومشاكل اخرى لا وجود لها لحد اليوم. تلك الاحتمالية وعلى الرغم من ان تحسين السلالات هو جزء من برنامج منظمة علم الاحياء المجهريه الصناعية.

تحسين السلالات يمكن ان تنجز من خلال ما ياتي:

1-تنظيم فعالية الانزيمات المفردة من قبل الكائنات.

2-في حالة النواتج الايضية والتي تفرز الى الخارج فان زيادة نفاذية الكائن تجعل النواتج المايكروبية تطرح الى الخارج بسهولة .

3- تحويل الجهاز الوراثي الموجود في الكائن المنتج.

4- ايجاد وتقديم خصائص وراثية جديدة داخل الكائن من خلال تقنية ارتباط DNA او الهندسة الوراثية.

### **ثبات السلالات Strain stability**

العامل المهم في تطور السلالات الجديدة هو استقرار تلك السلالات. والصفة المهمة في ذلك هو طريقة حفظ وخرن المزارع البكتيرية المعزولة وبالتالي عدم خسارة تلك المزارع البكتيرية. وهذا يتضمن خزنها في النتروجين السائل او التجفيد (Lyophilization التجميد والتجفيف freeze-drying )

### **عزل الاحياء المجهريه الصناعية من البيئة**

## **Isolation of suitable microorganisms from the environment**

الطرق المستخدمة لعزل الاحياء المجهريه الصناعية من البيئة ممكن ان تكون بقسمين عشوائي او موضوعي ( objective ) اي ذات هدف محدد. في الطريقة الاولى نماذج الاحياء المجهريه الحرة المعيشة والاعشبة الحيوية biofilms او مجتمعات بكتيرية اخرى تجمع من الحيوانات والمواد النباتية والتربة وشبكات الصرف الصحي والماء والبيئات الطبيعية.

هذه العزلات من ثم تفحص للتحري عن ميزات مرغوبة وان البديل هو استعمال الطريقة الثانية عن طريق اخذ النماذج من مواقع محددة والتي تحوي كائنات بصفات مرغوبة والتي تعد جزء من الفلورا الطبيعية لتلك المواقع. فمثلا عند وجود محاولة لعزل كائن ما والذي له القدرة على تحلل او ازالة سمية مركبات محددة وبهذا فان النماذج تجمع من تلك الموقع الملوث بتلك المواد. عندما تجمع النماذج مشاكل كبيرة سوف تقرر بخصوص اوساط النمو الظروف المزروعية والتي يجب ان تستخدم

لعزل الكائنات المستهدفة. الخطوة الاولى هي غالبا قتل او كبح تكاثر الكائنات الغير مرغوب فيها وتشجيع نمو الكائنات النادرة والمرغوب بها.

الايوساط الاغائية Enrichment cultures يمكن ان تستخدم سواء في المزرعة المغلقة او المفتوحة وهكذا فان نمو الكائنات ذات الميزات المرغوبة سوف يشجع ومن ثم زيادة كمية الكائنات المستهدفة تمهيدا لعزلها وفحصها. وتلك الطريقة في الاختيار مناسبة فقط في حالة كون الميزة تزود فائدة تنافسية لتلك الكائنات. والعزل اللاحق سوف يكون على شكل مزارع نقية (pure cultures) على وسط صلب والذي يتضمن اختيار وتطوير اوساط زراعية اختيارية مناسبة وظروف النمو. وفي حال عزلت كمزارع نقية كل مزرعة يجب تفحص لصفة مرغوبة وانتاج انزيمات محددة ومركبات مثبطة الخ. وعلى كل حال في تلك المرحلة فان مستوى الفعالية او تركيز النواتج المستهدفة ليست مقلقة الى حد كبير تطورات السلالات التي تستطيع ان توظف لتحسين الاداء. العزلات المختارة يجب ان تفحص لسميات ضرورية اخرى مثل الاستقرار وعند الضرورة -الغير سمية؛ تلك اجراءات العزل والفحص يمكن استخدامها بسهولة للبحث عن كائنات مفردة.

### ظروف عملية التخمير

ان عملية التخمير يجب ان يتم فيها مراقبة مختلف المعايير التشغيلية داخل المخمر مثل الاس الهيدروجيني وادخال الهواء وتدفق الغازات والحرارة وعوامل اخرى مثل نواتج الخلايا نفسها يعني المخمر واخراج النواتج الايضية.

### نواتج عملية التخمير Fermentation products

ان الخطوات العامة في الانتاج الضخم للمواد العضوية في المخمر تشمل:

1- ادخال الكائن المجهرى والوسط المعقم داخل غرفة التفاعلات.

2- اجراء عملية التخدير.

3- التجهيز النهائي ويشمل (الاسترجاع والتنقية والتغليف للنواتج).

4- التخلص من النفايات

كل انواع النواتج يجب ان تنفذ بظروف معقمة وتراقب عادة باستخدام تقنيات حديثة لمعدل التدفق وجودة المنتج والمواد الخام مثل بقايا النباتات والمولاس والسكر واللحوم والاسماك ومصل اللبن الشرش. مواد كيميائية اضافية ممكن اضافتها للسيطرة على الاس الهيدروجيني او لزيادة النواتج. في عملية التخمير المغلقة batch fermentation المواد تضاف للنظام كلها دفعة واحدة وتؤخذ خلال التشغيل المحدد لغاية حصاد النواتج. بينما في عملية التخمير المستمر continuous feed systems المغذيات تضاف بصورة مستمرة لغرفة التخدير في المخمر وتؤخذ النواتج خلال التشغيل. اجزاء المخمر تسمح للحصول على النواتج الخام والنفايات من غرفة التخدير عند انتهاء عملية التخدير. ويمكن استرجاع النواتج الخام من خلال الترسيب والطرء المركزي والترشيح او تحليل الخلايا. بعض النواتج بعد هذه العمليات تكون جاهزة للتغليف بينما الاخرى تحتاج الى عمليات اضافية من التنقية والفصل والتركيز او التجفيف والنواتج الاضافية هي دائما على شكل مساحيق وكيك وحبيبات او سوائل توضع في اوعية معقمة.

## انواع نواتج التخمر Fermentation products

نواتج التخمر بصورة عامة تكون ضمن قسمين الاول يشمل منتجات ذات حجوم كبير ورخيصة الثمن مثل منتجات تخمر الاطعمة والمشروبات والقسم الاخر منتجات باهضة الثمن وصغيرة الحجم مثل المنتجات الكيميائية والصيدلانية.

### 1- الاطعمة والمشروبات والاضافات الغذائية والتجهيزات

#### Food, beverages, food additives and supplements

تستخدم بكتريا حامض اللاكتيك في انتاج الالبان بينما تستخدم الخمائر في انتاج المشروبات الروحية (البيرة والخمرة) لقدرتها لتخمير السكر من مصادر نباتية مختلفة لانتاج الايثانول. كل عمليات التخمر تستخدم سلالة من نوع واحد هو *S. cerevisiae* بقية سلالات ذلك النوع تستخدم في انتاج تخمير عجينة الخبز. العديد من الاحماض العضوية تنشأ من الفعل المايكروبي والتي تستخدم في صناعة الغذاء و مدى واسع من اغراض اخرى. ان الاستعمال الاول للانسان كان حامض الخل وهو كناتج لعملية اكسدة المشروبات الكحولية بواسطة ( LAB Lactic acid bacteria ) او من خلال تخمرات هوائية لانتاج حامض الخل بواسطة الخيوط الفطرية للفطر *A. niger* والتي اصبحت من نواتج التخمرات الصناعية الكبيرة لانها تحتوي على تطبيقات غذائية وغير غذائية عديدة. كذلك معظم الاحماض الامينية والفيتامينات تستخدم كتجهيزات غذائية للانسان وغذاء للحيوان والتي تنتج من قبل الاحياء المجهرية. بالاضافة الى بعض الاحياء المجهرية تحتوي على مستوى عالي من البروتين مع صفات غذائية جيدة مناسبة للاستهلاك البشري والحيواني وتلك تسمى بروتين الخلية المفرد *single cell protein* والتي ممكن ان تنتج من مدى واسع من الاحياء المجهرية بعد انماءها على مصادر كربونية رخيصة. بعض المركبات المهمة الاخرى التي تنتج بكميات كبيرة بواسطة الاحياء المجهرية الاحماض الامينية والعضوية والمذيبات ومركبات النكهة الغذائية والتي تستخدم في المعطرات الهوائية او الاغذية.

### 2- منتجات العناية الصحية Health-care products

في مجال الفائدة الطبية ربما تعد المضادات الحياتية من المركبات المهمة التي تنتج من الاحياء المجهرية الصناعية وهي تعد من منتجات الايض الثانوي وتنتج بواسطة الخيوط الفطرية للفطريات والبكتريا خصوصا البكتريا الخيطية *Actinomycetes*. من المنتجات الطبية المهمة الاخرى والتي تنشأ من التخمرات المايكروبية او التحولات البيولوجية *biotransformations* هي القلويدات *alkaloids* السترويدات واللقاحات. وحديثا فقد تم انتاج بروتينات بشرية مثل الانسولين والانتريفيرون وهرمونات النمو البشرية من العديد من الاحياء المجهرية.

### 3- الانزيمات المايكروبية Microbial enzymes

الانزيمات المايكروبية وخاصة انزيمات التحلل الخارجية *extracellular hydrolytic enzymes* تحوي العديد من الادوار كمساعدات او انتاج مدى واسع من الاغذية الخاصة او منتجات غير غذائية. فمثلا انزيمات البروتينيز *Proteases* يستخدم بصورة واسع كاضافات لمساحيق الغسيل وايضا لازالة الضباب البروتيني من البيرة وكذلك في صناعة الجبن. العديد من انزيمات ال *carbohydrases* تستخدم في صناعة العصائر السكرية المختلفة من المصادر السكرية المتعددة. وهناك انزيمات اخرى مثل *amylases, lipases, oxidases, and cellulases* تصنع بواسطة تقنية التخمر.

#### 4- المواد الكيميائية الصناعية والوقود Industrial chemicals and fuels

من المواد الكيميائية الصناعية الخام والتي تجهز خلال عملية التخمير تكون في مقدمتها الكحوليات المختلفة والمذيبات مثل الاسيتون والاحماض العضوية والسكريات المتعددة والدهونات والمواد الخام لصناعة البلاستيك . بعض تلك منتجات التخمير تحتوي تطبيقات ايضا في صناعة الاغذية. النفط حسب الدراسات الحديثة سوف يبدأ بالنضوب خلال المائة سنة القادمة ينتج عنه البحث عن مصادر بديلة للوقود وحاليا الميثان والايثانول تعد المنتجات الرئيسية على الرغم من ان مصادر الوقود الاخرى المحتملة ممكن تخليقها باستعمال الاحياء المجهرية مثل الهايدروجين والايثان والبروبان والبيوتانول.

#### Extraction of fermentation products

#### استخلاص منتجات عملية التخمير

المشكلة الرئيسية في عملية استخلاص منتجات التخمير من البيرة المتخمرة او السوائل هي النواتج المطلوبة عادة ولكن ليس دائما تشكل نسبة صغيرة من خليط معقد وغير متجانس من حطام الخلايا ونواتج ايضية اخرى ونسب غير مستعملة من الوسط. العوامل الاتية يجب ان تؤخذ في نظر الاعتبار عند الشروع باختيار طرق الاستخلاص:

- 1- قيمة الناتج النهائي
  - 2- درجة النقاوة المطلوبة لجعل الناتج النهائي مقبول مع الاخذ بنظر الاعتبار ايرادتها الانتاجية المحتملة.
  - 3- الخصائص الكيميائية والفيزيائية للناتج.
  - 4- موقع الناتج ضمن الخليط سواء كان حر في الوسط او عبارة عن خلايا مربوطة.
  - 5- الكلفة او الجاذبية الاقتصادية لاجراءات العزل البديلة الاخرى والمتاحة.
- الاجراءات المتبعة داخل كل مرحلة يعتمد على المسار في المواد المراد استخلاصها والنواتج ممكن ان تكون الخلايا نفسها مثل في صنع الخمائر او مواد في الخلايا مثل (الستربتومايسين او بعض الانزيمات) او حرة في الوسط مثل البنسلين.

#### 1- إزالة المخلفات الصلبة والغير ذائبة SOLIDS (INSOLUBLES) REMOVAL

الخطوة الاولى لفصل الشكل الصلب من الجزء السائل وبالتالي تسهيل لمزيد من خطوات الاستخلاص مثل الامتصاص واستخلاص المذيبات والتي تكون ضائعة وقريبة للمستحيل اذا كانت الخلايا غير قابلة للفصل. في معظم الحالات وعلى كل حال طرق الفصل المستخدمة هي الترشيح والطرد المركزي والصفق decantation وتجزئة الرغوة. عندما الاجزاء المطلوبة في داخل الخلايا بعد ذلك الكثير من الشوائب سوف تطرد من خلال المرشحات بعد ما تعزل الخلايا. الطرق المختلفة والمستعملة في ازالة المخلفات الصلبة:

- 1- الترشيح Filtration
- 2- الطرد المركزي Centrifugation
- 3- التخثر والتلبد Coagulation and Flocculation
- 4- تجزئة الرغوة Foam Fractionation

## 5- معالجة الوسط السائل بالكامل Whole-broth Treatment

### 2- ازالة النواتج الاولية PRIMARY PRODUCT ISOLATION

بعد فصل البروث على شكل اجزاء ذائبة او غير ذائبة فان الخطوة القادمة تعتمد على موقع الناتج المرغوب وكما ياتي:  
الخلايا نفسها كما في الخمائر ممكن هي الناتج المرغوب سوف تجفف او تبرد والسائل سوف يطرح. الناتج المرغوب ممكن ان يرتبط للفطر او للخلايا البكتيرية مثل في حالة المضادات والانزيمات المرتبطة. الخلايا بعد ذلك سوف تعطل مع الكثير من الطرق المتاحة التسخين والتعطيل الميكانيكي الخ. حطام الخلايا سوف تزال الان بالطرد المركزي والترشيح او اي من الطرق المستعملة لازالة المخلفات الصلبة. حيثما تكون المواد متوفرة خارج الخلية او المواد التي تم الحصول عليها بالترشيح مع او بدون تشتيت الخلايا بعد ذلك تعالج بوحدة من تلك الطرق تشتيت الخلايا او استخلاص السائل واستخلاص الفواصل او الامتصاص او الترسيب.

### 3- التنقية PURIFICATION

الطرق المذكورة اعلاه تعزل خليط المواد والمثابه في الخصائص الفيزيائية والكيميائية للناتج المطلوب. اما الطرق التالية فهي ادق وتزيل الملوثات اكثر وهكذا تترك الناتج المطلوب اكثر نقاوة وهي:

a- الكروماتوغرافيا Chromatography

b- ازالة اللون Carbon Decolorization

c- البلورة Crystallization

### 4- عزل النواتج PRODUCT ISOLATION

ان العزل النهائي للناتج يتم باحد الطريقتين:

a- معالجة المنتجات البلورية processing of crystalline products

b- تجفيف المنتجات مباشرة من المحلول drying of products direct from solution

في الطريقة الاولى فان النواتج البلورية تكون حرة الترشيح وغير قابلة للانضغاط ولذلك ممكن ترشيحها على قيعان سميكة تحت ضغط عالي باستخدام اجهزة طرد مركزي خاصة بعد ذلك تغسل البلورات لازالة المحلول الملصق الاصلي. بعد الغسل المواد تجفف بواسطة الدوران لزيادة الجفاف او لازالة المذيبات.

اما بالنسبة لطريقة التجفيف فهي تتضمن ازالة المحلول (اما مذيبات عضوية او ماء) من البلورات الرطبة مثل ما ذكر بالطريقة الاولى او من المحاليل او من المخلفات الصلبة او عزل الخلايا من العمليات الاولى. هناك العديد من طرق التجفيف والطريقة الاكثر استعمالا تعتمد على عدة عوامل منها الطبيعة الفيزيائية للناتج النهائي وحساسيته للحرارة والشكل المقبول للمستهلك و القدرة التنافسية للطرق المختلفة فيما يتعلق لتكلفة الناتج النهائي. التجفيف ممكن ان يتم في حالتين

1- ازالة الرطوبة من الطور السائل phase-liquid moisture removal

وتتضمن التجفيف بواسطة التسخين

2- ازالة الرطوبة من الطور الصلب Solid-phase moisture removal (freeze-drying)



المواد سوف تجمد اولا وفي هذه الحالة سوف يتبخّر الماء مباشرة من المواد وهذه التقنية مفيدة للمواد التي تتلف بالحرارة مثل الانزيمات والمضادات الحياتية.