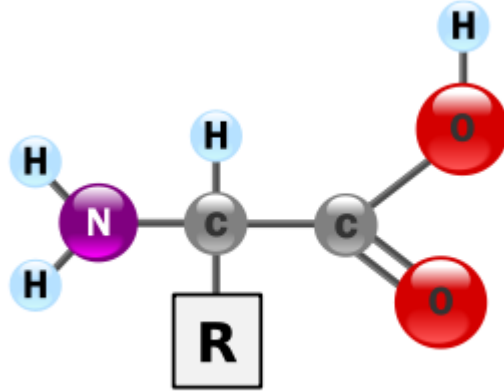


## الأحماض الأمينية (Amino Acids)

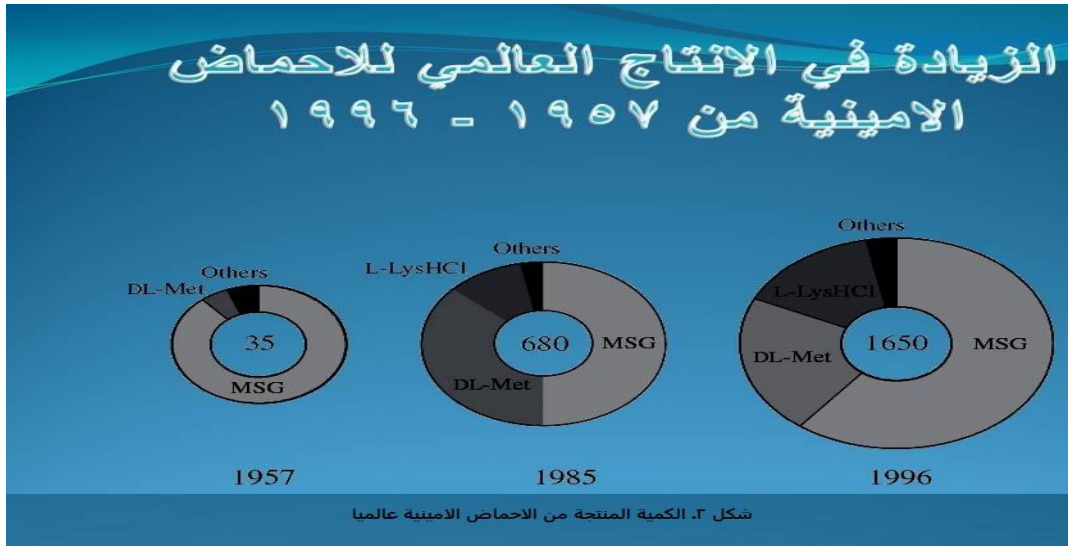
يعد الحامض الأميني بأنه أحد انواع المركبات العضوية، يتميز في امتلاكه لنوعين من الجذور الكيميائية، هي الجذر القاعدي الأميني  $NH_2$  وجذر حامضي كربوكسيلي  $COOH$  متحدثين مع ذرة كربون مرتبطة بدورها بسلسلة عضوية جانبية  $R$  Side chain تكون مختلفة من حمض أميني إلى آخر (الشكل 1). تعتبر الأحماض الأمينية وحدة التركيب الأساسية للبروتينات في الكائنات الحية.



شكل 1. الهيكل الاساسي للاحماض الامينية

كما انها تعد الوحدات الاساسية لبناء وتكوين الببتيدات والبروتين في الجسم. اذ يمكن ملاحظتها بسهولة بعد هضم البروتين. يبلغ مجموع الاحماض الامينية عند 20 حامضا امينيا منها ثمانية انواع تعد أساسية وذات اهمية للجسم البشري (التي لا يمكن للجسم البشري أن يصنعها بنفسه) والمتبقي منها غير أساسية (يتمكن الجسم البشري من تصنيعها، بشرط التغذية السليمة). وعلى الرغم من قدرة الجسم على تصنيع الأحماض غير الأساسية، إلا أنه في بعض الأحيان يتوجب أخذ مكملات للأحماض غير الأساسية لضمان توفر الكمية المثلى في الجسم. هناك نوع من الاحماض الامينية تسمى الاحماض شبه-الأساسية، اذ ان الجسم يستطيع تصنيعها ولكن بكميات محدودة.

تدخل الاحماض الامينية في مجالات متعددة لعل اهمها بناء الخلايا وإصلاح الأنسجة، اذ ان الأحماض الأمينية تشكل مادة البناء الرئيسية للأجسام المضادة لمكافحة غزو البكتريا والفيروسات، وهي تشكل جزءا أساسيا من نظام الإنزيمات والهرمونات. كما انها تدخل في بناء البروتينات النووية، وتدخل ايضا الاحماض الأمينية بمهام أخرى كنواقل عصبية ومواد أولية لبعض الهرمونات أو كمصدر للطاقة. كما انها تدخل كمضافات للاغذية وفي الصناعات الدوائية ومواد التجميل وكمواد خام في الصناعات الكيميائية كما تدخل في تدعيم الاعلاف الحيوانية لزيادة انتاجها. بلغ الانتاج العالمي لحد العام 2003 مايقارب من 2 مليون طن متري (الشكل 2).



ان طرائق انتاجها تتضمن ثلاثة انواع (الجدول 1) هي:

1. التحلل المائي للبروتينات
2. التصنيع الكيميائي
3. الانتاج الميكروبي.

جدول ١. الكميات المنتجة من انواع الاحماض الامينية وطريقة انتاجها

Amino acid	Estimated production (ton/year)	Processes
MSG	1,000,000	Fermentation
D,L-Methionine	350,000	Chemical synthesis
L-Lysine HCl	250,000	Fermentation
Glycine	22,000	Chemical synthesis
L-Phenylalanine	8,000	Fermentation, chemical synthesis
L-Aspartic acid	7,000	Enzymatic method
L-Threonine	4,000	Fermentation
L-Cysteine	1,500	Extraction, enzymatic method
D,L-Alanine	1,500	Chemical synthesis
L-Glutamine	1,300	Fermentation
L-Arginine	1,200	Fermentation
L-Tryptophan	500	Fermentation, enzymatic method
L-Valine	500	Fermentation
L-Leucine	500	Fermentation, extraction
L-Alanine	500	Enzymatic method
L-Isoleucine	400	Fermentation
L-Histidine	400	Fermentation
L-Proline	350	Fermentation
L-Serine	200	Fermentation
L-Tyrosine	120	Extraction

تتنمي الأحماض الأمينية المكونة للبروتينات الموجودة في الطبيعة إلى فئة ألفا  $\alpha$ -Amino Acids وذلك لأن جذري الأمين والهيدروكسيل يرتبطان بذرة الكربون الأولى في السلسلة. كما توجد احماض أمينية أحيائية من فئة بيتا مثل البيتا-ألانين ( $\beta$ -Alanine) وأخرى من فئة كاما مثل حمض الكاما-أمينوبيوتيريك ( $\gamma$ -Aminobutyric acid) ورغم وجود عدد كبير من الاحماض الألفا-الأمينية في الطبيعة إلا أن السلاسل البروتينية لاتحتوي سوى 20 نوعا منها فقط. وتتوفر أيضا مجموعة من الاحماض الأمينية المصنعة كيميائيا ولها عدة استعمالات في مجال الصناعة الكيميائية والصيدلانية والغذائية.

ان تصنيع الاحماض الامينية كيميائيا يكون الناتج عنها خليط من النوعين L و D اذ ان النوع D يعد ضارا في الصحة ولايمكن استعماله في التغذية بينما يكون الناتج من الانتاج الميكروبي من النوع L فقط التي يمكن استعمالها بامان في التغذية والاضافات الغذائية. وتتنوع استعمالات الاحماض الامينية حسب النوع كذلك اعتمادا الى نوعية طريقة التصنيع (الجدول 2).

الاحماض الامينية	الاستعمالات
L- Glutamate	محسن للنكهة ومطري للحم
L- Asparatate , L- A lanine	عصائر الفواكه
L- Glycine	محسن للنكهة في الاغذية المحلاة
L- Cystein	مضاد للاكسدة في العصائر ، وفي صناعة الخبز
L- Tryptophane , L- Histidine	مضاد للاكسدة في الاغذية المختلفة مثل الحليب
L- Lysine , L-methionine	محسن للقيمة الغذائية خاصة في الاغذية النباتية

التقنيات المستعملة في زيادة انتاج الاحماض الامينية من الخلايا...

ان اهم التقنيات التي يتم عند استعمالها زيادة انتاج الخلايا الميكروبية من الاحماض الامينية هي الاتي:

1. انتاج سلالات طافرة مثبط فيها الية التثبيط بالتغذية الراجعة من المنتج النهائي (Feed back inhibition from final product) في الميكروبات الصناعية المنتجة للاحماض الامينية. التي تتضمن قابلية الحامض الاميني كنتاج نهائي في تثبيط الانزيم الاول المسؤول عن بداية انتاج الحامض الاميني (الشكل 3).



2. انتاج مايكروبات صناعية طافرة منتجة للاحماض الامينية ذات قابلية في مقاومة الاجهاد Repression: تتضمن الحالة في انتاج طفرات لانتج البروتين المثبط Repressor protein او انها تتمكن من انتاج البروتين المثبط ولكنه يكون غير متوافقا للارتباط مع الحامض الاميني المراد انتاجه. وبالتالي لا يحدث ارتباط البروتين المنتج مع الجين المشغل الذي تتم من خلاله عملية النسخ للحامض الاميني.

3. ان تكون الخلايا الميكروبية الصناعية الطافرة ذا قابلية عالية في التناذر من خلال الغشاء الساييتوبلازمي. الذي يتم من خلال الحالة المشار اليها قابلية الخلية الميكروبية الصناعية على افراز الحامض الاميني خارج الخلية لمنعها من تثبيط مسار انتاجه عند وصول تركيزه الى مستوى عالي يتم معه تثبيط انتاج الحامض الاميني.

### انتاج حامض الكلوتاميك L- glutamic acid production

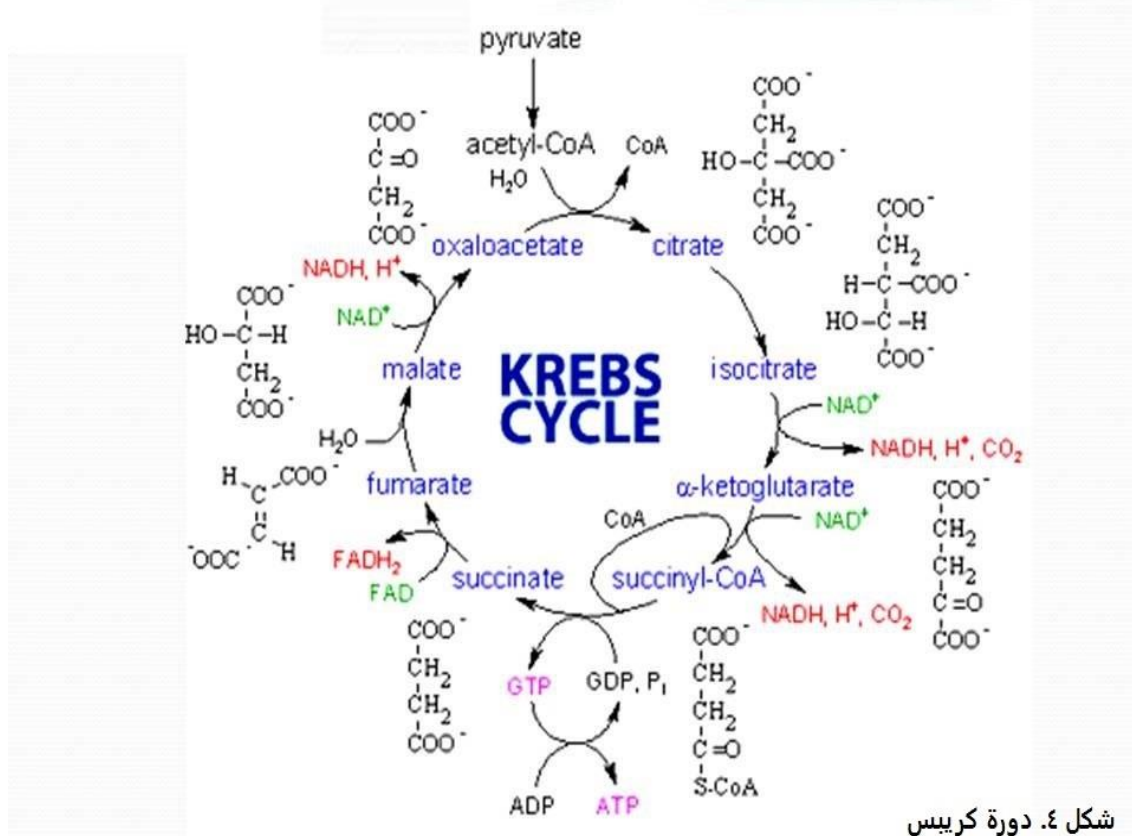
انتج حامض الكلوتاميك بداية من خلال التحلل المائي لكلوتين الحنطة بشكل كلوتامات الصوديوم الاحادية Mono sodium glutamate في العام 1909 في اليابان . اما اول انتاج للحامض من خلال استعمال الاحياء المجهرية فقد كان في العام 1957. يستعمل الحامض المنتج في الصناعات الغذائية كعامل نكهة حيث يعطي نكهة اللحوم.

استعملت في انتاجه بكتريا *Corynebacterium glutamicum* على النطاق التجاري كما امكن انتاجه من سلالات بكتيرية اخرى تابعة للاجناس *Brevibacterium* و *Arthrobacter* و *Micrococcus* . ان

من صفات الكائن ان يكون مقاوما للاقمات الفايروسية التي في حالة وجودها فانها تسبب في فشل عملية الانتاج . يتم الانتاج بعد تنمية النوع البكتيري على الوسط الزرعي الملائم الذي يكون محتويا على الكلوكوز والاملاح غير العضوية كما يحتوي على البايوتين في تركيز اقل من الحد المثالي لنمو الكائن المجهرى، الذي يسبب نقصه في زيادة نفاذية جدار الخلية البكتيرية وبالتالي السماح للخلية في افراز مكوناتها من حامض الكلوتاميك الى الوسط الغذائي خارج الخلية. ان انتاج الخلية البكتيرية *Corynebacterium glutamicum* لكمية من الحامض تصل الى 50 ملغم في داخلها الى حدوث ظاهرة تثبيط التغذية الراجعة FBI اذا لم تكن السلالة البكتيرية قد حسنت لتكون مقاومة لتلك الحالة. يؤدي اضافة البنسلين او احد العوامل الفعالة على السطح مثل Tween 60 or 40 خلال فترة التخمير الى زيادة نفاذية جدار الخلية المايكروبية عند اي مستوى من البايوتين في الوسط الغذائي لذلك فانه يمكن استعمال الاوساط الغذائية الطبيعية الرخيصة والغنية بالبايوتين مثل مولاس القصب او البنجر، كما يمكن استعمال البارفينات الطبيعية او حامض الخليك او الايثانول بدل من الكربوهيدرات لاسيما منها مرتفعة التكاليف.

#### الية انتاج حامض الكلوتاميك

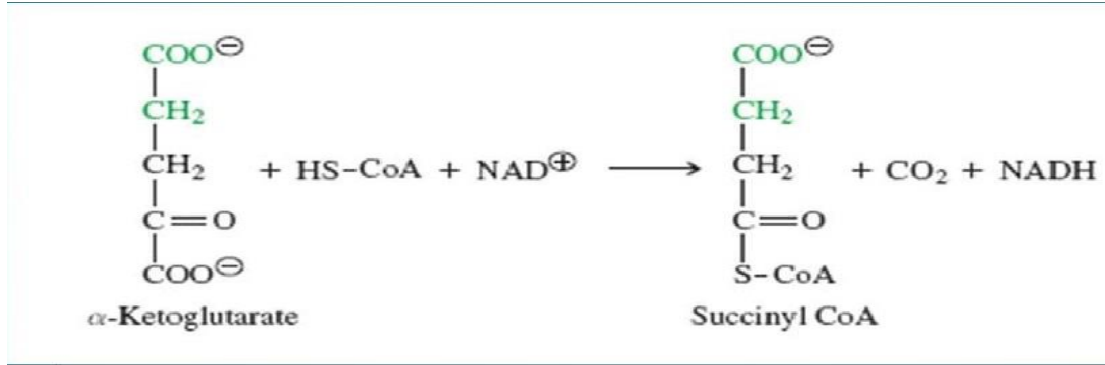
تعتمد الية انتاج حامض الكلوتاميك في تكوين المسار الايضي من دورة الحامض ثلاثي الكربوكسيل غير الكاملة (الشكل 4).



شكل ٤. دورة كريبس

ان عدم اكتمال دورة كريبس تحصل بسبب النقص في الانزيم الذي يسبب في تحويل حامض الكلوتاميك الى حامض السكسنيك (الشكل 5) المسمى  **$\alpha$ -keto glutarate dehydrogenase** حيث يؤدي النقص في انتاجه من قبل البكتريا الى زيادة تجمع حامض الكلوتاميك في داخل الخلية. ان السلالات المنتجة للكلوتاميت تكون في العادة ذا فعالية عالية من انزيم **Glutamate dehydrogenase** الذي يحول مركب  **$\alpha$ -keto glutarate الى Glutamate**. كما ان نقص البايوتين يسبب في زيادة النفاذية للغشاء الخلوي للسلالة البكتيرية واعطاء النفاذية المناسبة لخروج الكلوتاميت مع الوسط الغذائي. تحتاج السلالة المذكورة من البكتريا الى الاملاح من الفوسفات والبوتاسيوم والمغنسيوم والمنغنيز كما يجب اضافة املاح الامونيوم كمصدر للنروجين كونه يدخل في تخليق الكلوتامين في داخل الخلية.





شكل 5. الخطوة الرئيسية في انتاج حامض الكلوتاميك في دورة كريبس

### ظروف انتاج حامض الكلوتاميك

تتم عملية انتاج حامض الكلوتاميك باستعمال المخمر في طريقة التنمية المستمرة. تتم عملية التخمر عند حرارة 30 الى 35 ° م ومستوى من الاس الهيدروجيني عند 7 الى 8 ويتم الضبط باستعمال الامونيا. يجب توفير الاوكسجين بشكل جيد في جهاز المخمر اذ ان انخفاض نسبته تسبب في انخفاض انتاج الكلوتاميك وانتاج كل من حامض اللاكتيك والسكسينيت بدله. اما في حالة زيادة تركيز الاوكسجين فانها تؤدي الى تجمع كميات اضافية من حامض  $\alpha$ -keto glutarate . كذلك تسبب الكميات الزائدة من البايوتين في الاتجاه الى تكوين حامض اللاكتيك حتى مع وجود الكميات المناسبة من التهوية. يمكن استبدال حالات قلة البايوتين للحصول على النفاذية في الغشاء في اضافة البنسلين او العوامل الفعالة على السطح.

يمكن الحصول على الكلوتاميك بعد مدة تنمية بين 48 الى 72 ساعة من بدء التخمر. وان تركيز حامض الكلوتاميك يصل الى 50% من وزن الكربوهيدرات الموجودة في الوسط المستعمل للتنمية. ان استعمال البنجر السكري تسبب في زيادة نسبة انتاج الحامض وذلك لاحتواء المولاس على 3 الى 5% من حامض Pyrrolidone-5-carboxylic الذي يعد Amide داخلي لحامض الكلوتاميك.

### فصل وتنقية حامض الكلوتاميك

يتم فصل حامض الكلوتاميك وتنقيته من خلال فصل الخلايا من المزرعة السائلة بطريقة الطرد المركزي وتتم بلورة حامض الكلوتاميك بعد خفض الاس الهيدروجيني الى نقطة التعادل الكهربائي للكلوتاميك Isoelectric point عند 3.2 pH باستعمال حامض الهيدروكلوريك. ان المحافظة على دالة الحموضة مضبوطة عند 3.2 تسهل من الحصول على البلورات النقية من الحامض كما يتم اضافة حامض الهيدروكلوريك وراشح المزرعة بصورة منفصلة الى معلق البلورات من الحامض عند نقطة التعادل للحامض

للحصول على البلورات النقية. ان بقاء نسبة مرتفعة من السكر في الوسط يتكون عنها بلورات ضعيفة بعكس الحال الذي تتكون معه بلورات جيدة في حالة وجود بعض الاحماض الامينية في الوسط الغذائي.

تحضر مادة كلوتاميت الصوديوم الاحادية من بلورات حامض الكلوتاميك النوع L حيث يذاب في محلول هيدروكسيد الصوديوم ثم يتم قصر المحلول الناتج وتركيزه وبلورته. وفي حالة استعمال المبادلات الايونية قوية القاعدية فانه يتم الحصول على كلوتاميت الصوديوم الاحادية من دون فصل حامض الكلوتاميك لانه يتم ازالة الاحماض العضوية عدا الامينية في تلك الحالة.

### انتاج اللايسين L-lysine

يعد الحامض الاميني اللايسين بانه من الاحماض الامينية الاساسية وان استعماله في الغالب يكون مدعما للاعلاف الحيوانية وان انتاجه في الغالب يكون باستعمال الاحياء المجهرية حيث تصل الى اكثر من 80% من انتاجه والمتبقي بحدود 20% يكون انتاجها بالتخليق الكيميائي.

### الية انتاج اللايسين

يستعمل نوع البكتريا *Corynebacterium glutamicum* في انتاج اللايسين ولكنها تكون من النوع الاوكسوتروفية للهوموسيرين (اي السلالة التي فقدت صفة انتاج الهوموسيرين). تنتج هذه السلالة للحامض الاميني اللايسين بعد تنميتها تحت الظروف المناسبة للانتاج. اذ ان حالة الانتاج تتطلب اضافة البايوتين بكميات مناسبة حيث ان اضافته بكميات قليلة سيؤدي الى اتجاه البكتريا لانتاج حامض الكلوتاميك كما ان زيادته يسبب في الاتجاه الى انتاج كل من حامضي اللاكتيت والسكسينيت. ان اضافة المضاد الحيوي البنسلين الى الوسط الغذائي للانتاج يؤدي الى الاتجاه في زيادة انتاج الكلوتاميك.

ان الية الانتاج تكمن في زيادة فعالية انزيم **Aspartokinase** الذي يزيد من كمية اللايسين المنتجة من خلال فاعليته في تثبيط ظاهرة التغذية الراجعة المتعددة Multivalent feed back homoserine باللايسين والثريونين اذ ان السلالة اعلاه ينقصها انزيم **Homoserine dehydrogenase** الذي في حالة وجوده سوف يتجه الانتاج للاحماض الامينية الاخرى. ان تثبيط التغذية الراجعة يكون ناتجا من انخفاض مستوى الثريونين وبذلك يحافظ انزيم **Aspartokinase** على فاعليته وبالتالي زيادة انتاج اللايسين.

نظرا لكون السلالة فاقده لصفة انتاج الهوموسيرين وان كل من الحامض الاميني الميثيونين والثريونين يتم انتاجهما من الهوموسيرين فانه بالتالي يكون هناك فقدان لهذان الحامضان في البكتريا لذلك فانه هناك حاجة الى اضافتهما الى الوسط الغذائي الخاص بالانتاج.



وجد ان انواع اخرى من الانواع البكتيرية تتمكن من انتاج اللايسين لاسيما من انواع الاجناس *Corynebacterium* و *Bacillus* و *Brevibacterium*.

### عملية انتاج اللايسين

تتم عملية الانتاج لحمض اللايسين باستعمال النوع البكتيري *Corynebacterium glutamicum* تحت الظروف الهوائية من التتمية حيث يكون المخمر محتويا على وسائل توفير التهوية والتقليب وعند حرارة 28 °م وفي المستوى المثالي من الاعداد الميكروبية وذلك للمحافظة على السلالة من حالة الانحلال وحصول الطفرات الراجعة لها. يستعمل في الغالب وسط المولاس المخلوط بجريش فول الصويا المتحلل كما يتم المحافظة على وسط التخمر متعادلا وذلك من خلال اضافة محلول الامونيا. تكتمل مدة التتمية بعد 48 الى 72 ساعة وتكون كمية الناتج عند 50 غم لكل لتر من الوسط الغذائي.

### فصل اللايسين

يتم فصل حامض اللايسين مباشرة من راشح المزرعة بشكل هيدروكسيد اللايسين بعد اضافة حامض HCL الى الراشح وادمصاص اللايسين على عمود التبادل الكاتيوني المتكون من الامونيوم، حيث يسحب اللايسين من العمود باضافة الامونيا السائلة بعدها يتم تخفيفه باضافة حامض HCL لتتم بلورته بشكل L-lysine hydrochloride .