ألاحتياجات الغذائية والنمو للإحياء الصناعية

يعد الهدف الرئيس من عمليات التقنية الحيوية هو إنتاج المواد الحيوية التي يحتاجها الإنسان صالحة للاستعمال وبأقل كلفه ممكنه. لذلك فان انجاز عمليات التصنيع الحيوي يتطلب المعرفة الكاملة في احتياجات النمو والانتاج للإحياء المجهرية الصناعية سواء كانت تلك المتطلبات غذائية او بيئية فضلا عن الاحتياجات الاخرى التي تكون مقترنة مع الحالات الخاصة لكل كائن مجهري او عملية تصنيعية لانتاج المنتج الحيوي اللازم.

هناك متطلبات اساسية يجب توفرها للوصول الى الأنتاج الحيوي من الاحياء الصناعية التي منها:

1- الماء.
2- مصادر الطاقة.
3- مصادر النتروجين
4- المغذيات الاخرى كالفيتامينات والعناصر المعدنية .
5- غياب مثبطات النمو والانتاج الحيوي.
6- الظروف البيئية الملائمة للنمو مثل الاوكسجين والحرارة والضوء والاس الهيدروجيني وغيرها.

الماء

يعد الماء بانه المكون الاساسي والمهم في حاجة الكائنات المجهرية عند استعمالها في عمليات الانتاج الصناعي حيث ان نسبته تصل في الخلايا الحية بين 70-90% وتأتي هذه الاهمية من جوانب متعددة أهمها:-

1. يعد الماء بانه الوسط الملائم لانجاز التفاعلات الحيوية التي تجري داخل الأنظمة الحيوية وخارجها.
2. يستعمل الماء كواهب للهيدروجين في الإحياء التي تقوم بالتخليق الضوئي .
3. أن اغلب انواع الإحياء المجهرية تكون تغذيتها تنافذية لذا فانها تحتاج الى الماء لاذابة المواد الغذائية التي تحتاجها لامكانية تنافذها من خلال جدرانها الخلوية.

إن الخلايا الحيوانية والنباتية التي تنمى بشكل عالق تكون حساسة جدا للشوائب الموجودة بالماء لذلك يجب استعمال ماء ذو نوعية جيدة كالماء المقطر منزوع الايونات (حديث التقطير) لمنع نمو بعض الأحياء فيه وعند خزنه يجب ان يكون في درجات حرارة عالية أو منخفضة جدا .

أما الإحياء المجهرية فان لها القدرة على تحمل بعض الشوائب لذلك يمكن معها استعمال ماء ذو نوعية اقل جودة ويعبر عن استجابة الإحياء المجهرية للضغط الازموزي بالنشاط المائي a^w (Water activity) الذي يعبر عن مقياس كمية الماء الحر في أي نظام ويعرف **بأنه النسبة بين ضغط بخار الماء في أي محلول إلى ضغط بخار الماء النقي** التي تكون عند 1 في الماء النقي وتنخفض عند إضافة أو ذوبان المواد المختلفة فيه. اعتمادا الى ذلك فان الاحياء المجهرية تتفاوت في قابليتها على تحمل المستويات المختلفة من النشاط المائي، اذ ان بعضها يصل في قابلية تحملها الى مستويات 0.61 منه.

أن أهمية الماء لا تنحصر فقط في العلاقة المباشرة مع نمو الخلايا، اذ هناك جوانب أخرى تبرز اهمية الماء في عمليات التقنية الحيوية منها عند استعمالة في عزل الإحياء او عزل منتجات التخمر وتنقيتها او في حالات التنظيف والتعقيم وغيرها من العمليات. يلاحظ أن المياه المزودة للمصانع تكون في حالة غير مستقره في محتواها الكيماوي لذلك من الضروري إجراء فحوصات مستمرة للتأكد من نوعية المياه اذ أن وجود بعض الايونات قد يؤدي إلى تثبيط النمو آو الفعاليات الحيوية الإنتاجية لها فضلا عن انه يمكن ان يسبب في تأكل الأوعية والأنابيب. كما يتذبذب محتوى المياه الميكروبي اذ يمكن ان يكون مقبولا في استعماله إذا احتوى على اعداد بين 20–100 خلية/ مل.

مصادر الطاقة

تحصل الاحياء المجهرية على الطاقة من مصدرين رئيسيين هما:

1- **مصدر مباشر:** تكون الطاقة المتحصل عليها فيه مصدرها من ضوء الشمس ويستفاد منها من خلال عمليات التخليق الضوئي .

2- **مصدر غير مباشر:** يكون مصدر الطاقة فيه من خلال أكسدة المواد الغذائية التي سبق وان نتجت من تثبيت الطاقة الضوئية وتحويلها إلى طاقة كيماوية .

أما مقومات النمو والبقاء الاخرى فان مكوناتها تكون من العناصر الموجودة في الطبيعة والتي تكون في تكوينها أكثر من 100 عنصر من العناصر الكيماوية، التي يكون منها فقط بين 35–40 عنصر يمكن الاستفادة منه في عمليات النمو للاحياء المجهرية. يعد **الكربون** من العناصر الاساسية في الاحتياجات الغذائية للكائنات يليه **النتروجين، الأوكسجين، الهيدروجين، الفسفور، ثم الكبريت** اذ تشكل هذه العناصر في نسبتها بين **90–95%** من الوزن الجاف للإحياء ثم تليها العناصر الأخرى مثل **البوتاسيوم والمنغنيز والصوديوم والكالسيوم** وبعض العناصر الاخرى.

لذلك فانه يمكن تقسيم المغذيات حسب الحاجة إليها إلى:

أ- المغذيات الكبيرة Macro nutrients وهي المغذيات التي تحتاجها الاحياء المجهرية بكميات كبيرة عند(غم/ لتر من الوسط الغذائي).

ب-المغذيات الصغيرة Micro nutrients وهي المغذيات التي تحتاجها الإحياء المجهرية بكميات قليلة عند (ملغم/ لتر من الوسط الغذائي).

ت-المغذيات النادرة Trace Nutrients وهي المغذيات التي تكون الحاجة اليها بكميات نادرة عند (مايكروغرام/ لتر من الوسط الغذائي) التي لاتضاف الى مكونات الوسط ويمكن ان تصل الى الاوساط في الغالب من المعدات والاجهزة المستعملة في تحضير الوسط.

مصادر الكاربون

يعتبر الكربون من العناصر الأساسية للحياة حيث تصل نسبته إلى 50% من الوزن الجاف للخلايا وتلعب العديد من مصادر الكربون دورا مزدوجا حيث تعمل كمصدر للطاقة اضافة الى كونها مصدرا للكاربون. يدخل الكاربون بصورة رئيسية في بناء الخلايا كونه يدخل في تركيب جميع مكوناتها الحيوية وبذلك تتنوع مصادر الكربون كي تكون متلائمة مع حاجة الخلايا الحية. مما ذكر فانه يمكن تقسيم الإحياء المجهرية اعتمادا الى مصادر الكربون التي تستهلكها إلى :-

1- **الإحياء ذاتية التغذية Autotrophy** وهي الاحياء التي تتمكن من تثبيت الكربون واستخدامه وتكون قادرة على القيام بعملية البناء الضوئي مثل الطحالب والبكتريا القادرة على التخليق الضوئي.

كما ان بعض الاحياء يكون لديها القدرة في استغلال الطاقة الكيماوية المشتقة من بعض المواد وتثبيتها كما في بعض انواع الطحالب التي تكون في هذه الحالة مختلطة التغذية Mix trophy.

2- **الإحياء غير ذاتية التغذية Heterotrophy** وهي الاحياء التي تستهلك الكربون العضوي وتتمثل بالخلايا الحيوانية والفطريات والابتدائيات ومعظم البكتريا وبعض الطحالب اذ ان هذه الإحياء تخلو من الصبغات المتعلقة بالتركيب الضوئي أو أنظمة تثبيت CO_2 الجوي.

مصادر الكربون :-

تتنوع مصادر الكاربون في الطبيعة وكذلك الى حاجة الاحياء المجهرية وقابليتها لاستخدامها لذلك تختلف الإحياء في مدى ونوعيات مصادر الكربون التي تستطيع أن تستهلكها فالخلايا الحيوانية والنباتية تستطيع أن تستهلك عددا محدودا من مصادر الكربون أما الأحياء المجهرية فانها تتنوع في قابليتها على استغلال

مصادر الكاربون اذ ان بعض أفراد جنس Pseudomonas تستطيع أن تستهلك مايقارب 90 نوعا منها بضمنها المصادر المعقدة مثل الفينولات والمبيدات بينما بعض انواع البكتريا ليس لها القابلية في ذلك ولاتتمكن الا في استغلال مصدر واحد او مصدرين للكاربون كما في البكتريا المولدة للميثان وان من أهم مصادر الكربون هي:-

1- **ثاني أكسيد الكربون CO2:-** يستخدم ثاني اوكسيد الكاربون من قبل بعض الاحياء المجهرية التي تسمى **الإحياء ذاتية التغذية** ويعد من اسهل انواع مصادر الكاربون كونه متوفرا في الجو. ويمكن أن يستعمل في أنتاج الكتلة الحيوية من قبل بعض انواع البكتريا والطحالب والأخيرة يمكن أن تكون الكليسيرول منه. كما تحتاجة بعض الكائنات غير ذاتية التغذية ولكن تكون الحاجه اليه بكميات اقل من الانواع ذاتية التغذية وغالبا ماتكون حاجة الخلايا له في تعويض المركبات الحاوية على أربع ذرات كربون التي تستهلك في دورة TCA خلال النمو ويمكن أن يستفاد من CO2 الناتج من التنفس وبذلك تقل الحاجة إلى مصادر خارجية، كما أن الخلايا الحيوانية تحتاج إلى CO2 من الجو لاستعماله في نظام HCO3\CO2 في الحفاظ على درجة الحموضة داخلها .

2- **الكربوهيدرات** :- تعد بانها من أهم مصادر الكربون المستعملة في التخمرات الصناعية وتعتبر اغلب الكربوهيدرات المخلقة حيويا قابلة للتحلل بواسطة الإحياء وتقسم الكربوهيدرات حسب الوحدات البنائية إلى أحادية وقليلة التعدد ومتعددة. وان من انواعها التي تستهلك من قبل الاحياء المجهرية الصناعية هي الاتي:

اولا: الكلوكوز Glucose. يعد الكلوكوز بانه الاختيار الأول في عمليات التخمر من الاحياء المجهرية ويمكن الحصول عليه من مصادر عديدة كما أن السكريات المتعددة وغيرها لابد ان تتحول إلى الكلوكوز قبل تمثيلها وايضها في الخلايا .

ثانيا: السكروز Sucrose. يصنف بانه من السكريات الثنائية ويتم الحصول عليه من قصب السكر او البنجر السكري ويعد واسع الاستعمال في التصنيع الغذائي لذلك يعتبر مكلفا في استعماله للانتاج الحيوي.

أن استهلاك الإحياء المجهرية للسكريات البسيطة يعد سريعا جدا كونها تعد جاهزه لتايضها في الخلايا لذلك لاينصح في اضافتها في دفعة واحدة بل تكون في حالة دفعات متعددة وبشكل تدريجي خلال التصنيع كي لايحصل من خلال اضافتها حالة الكبح الايضي للكائن المجهري.

ثالثا: النشا Starch. تعتبر السكريات المتعددة (المكورة) من المصادر الكربونية الجيدة في استهلاكها من قبل الاحياء المجهرية الصناعية ولكن وجودها في جزيئات كبيرة وغير ذائبة بالماء يجعل الحاجة الى ان تكون بشكل محاليل غروية قبل إدخالها إلى الأوساط الغذائية. يمكن الحصول على النشا من مصادر كاربوهيدراتية مختلفة مثل الذرة والبطاطا والحبوب والتي يمكن أن تطحن وتستعمل بشكلها الخام آو أن

يستخلص النشا منها ويحلل بعد استخلاصه بواسطة الأنزيمات لينتج الكلوكوز ويمكن تحليله بالحوامض ولكنها محدودة الاستعمال لتأثيرها السلبي على الإحياء الصناعية.

رابعا: منتجات الشعير. يمكن تحضير المولت Malt من تخمير حبوب الشعير الذي يحوي أنواع مختلفة من السكريات بالاضافه إلى النشا، كما ان الناتج من المولت يكون محتويا على انواع من العناصر الغذائية مختلفة عن مكونات الشعير الاساسية لاسيما من الفيتامينات ومنشطات النمو.

خامسا: مخلفات قصب السكر والبنجر السكري. يطلق على مخلفات القصب والبنجر بالمولاس وهو من أكثر المواد الاولية المستخدمة في التخمرات وذلك لكونه ناتج عرضي عن انتاج السكريات من القصب او البنجر. يحتوي المولاس على نسبه عالية من السكروز ونسب لابأس بها من الكلوكوز كما يحتوي العديد من العناصر الغذائية ولكنه فقير بالنتروجين وهو من المواد سريعة التلف .

سادسا: مخلفات مصانع الورق. تحتوي مخلفات مصنع الورق على كميات كبيرة من المواد العضوية بين 80-90% ومنها اللكنين والكربوهيدرات والمعادن وSO_2 وكبريتات الكالسيوم والحوامض المتطايرة مثل حامض ألخليك والفورميك. لايمكن استعمال مخلفات مصانع الورق بصورة مباشرة في التخمرات بسبب ارتفاع نسبة SO_2 المستعمل في التصنيع بالاضافه إلى وجود المعادن الثقيلة فيها كما أن حموضتها العالية عند مستوى من pH بين 1-3 يعتبر مثبط لمعظم الاحياء المجهرية، لذلك فان من الضروري اجراء بعض التحويرات قبل استعمالها كأضافه **هيدروكسيد الكالسيوم** لمعادلة الحموضة العالية كون ان هذه الاملاح تعد بانها مركبات غير ذائبة مع العديد من الحوامض والمواد مما يسهل إزالتها كذلك فأن مخلفات مصانع الورق تعد فقيرة بالنتروجين والفسفور لذا يجب إضافتها عند استعمالها وقد استعملت هذه المادة في إنتاج الايثانول وخمائر العلف.

سابعا: السليلوز. يعد السليلوز بانه اكبر المصادر الكربونية على الأرض كونه ينتج من النباتات ومخلفاتها. تستطيع الإحياء المجهرية من استخدامه كالتي لها القابلية في اتلاف الخشب مثل الفطريات والبكتريا وغيرها، قبل استعماله يفضل إجراء بعض المعاملات الأولية لتفكيك تركيبة البلوري وفك ارتباطه من اللكنين لتسهيل تحلله من قبل الإنزيمات المحللة له ومن هذه المعاملات التحلل ألحامضي أو المعاملة بمركبات خاصة مثلCADOXIN أو الطحن . تستخدم في بعض الحالات مزارع مختلفة تعمل الأولى في تحليل السليلوز إلى وحدات صغيرة ذائبة تتمكن الانواع الاخرى من الاحياء في استعمالها. ان من اهم المصادر السليلوزية للتخمرات هي الأجزاء النباتية والأخشاب ومخلفات الحبوب والأعشاب القصبية والأشجار النفضية.

ثامنا: نقيع الذرة Corn Syrup Liquor. يعد هذا المنتج بانه ناتج عرضي عن صناعة النشا وفي الغالب يستعمل كمصدر نتروجيني ولكن احتواءه على كميات كبيرة من السكريات المختزلة وحامض اللاكتيك جعله يعد مصدرا كاربوهيدراتيا .

3-الزيوت النباتية والحيوانية: تحتوي الزيوت على طاقة عالية تفوق الكربوهيدرات بـ2,5 مرة. تعد الزيوت النباتية أكثر ملائمة من الحيوانية كونها سائلة في درجات حرارة الغرفة كما يمكن استخدامها كمضادات رغوة ومن الزيوت المستخدمة في عمليات التصنيع هي زيت الذرة , فول الصويا ,القطن والكتان.

4-الكحوليات. ازداد الاهتمام بالكحوليات مؤخرا لعدة أسباب منها سهولة الحصول عليها بشكل نقي كما انها رخيصة الثمن ,متجانسة ,ذائبة بالماء, لاسيما الايثانول منها حيث يكون متجمعا على سطح التخمر مكونا رغوة خفيفة تزيد من توزيع الأوكسجين في وسط التخمر كذلك الميثانول الذي يتميز بنفس المواصفات لكنه أكثر تطايرا وسمية ولكن إنتاجه أسهل لان المواد الأولية المستعملة في إنتاجه أكثر انتشارا ورخصا وفي حالة استعمال الكحوليات يجب أجراء التخمر بدرجات حرارة واطئة نسبيا لتحاشي تجزئها.

5-الهايدروكربونات. تتمكن الإحياء المجهرية من استخدام الهايدروكاربونات كمصادر كربونية وتأتي البكتريا بالدرجة الأولى من استهلاكها تليها الخمائر والفطريات، ان من أهم الهايدروكربونات هي الالكانات Alcanes مثل الميثان المتوفر بالطبيعة بكثرة حيث يخرج مع مصادر النفط كما تنتجه البكتريا المولدة للميثان. وتعد كفاءة الميثان عالية في إنتاج الكتلة الحيوية.

مصادر النتروجين

يعد النتروجين من العناصر الأساسية لبناء ونمو الخلايا الحية وهو يدخل في تركيب البروتينات والحوامض النووية وبعض المركبات الأخرى ويمثل حوالي 8-14% من الوزن الجاف للخلايا ومصادر النتروجين الطبيعة تكون على نوعين هما النتروجين اللاعضوية التي منها النتروجين الجوي وأملاح الامونيوم والنترات آو النتروجين العضوي كالأحماض الامينية والبروتينات ومشتقاتها.

أ- المصادر اللاعضوية :-

1- النتروجين الجوي. تتمكن بعض الإحياء المجهرية من تثبيت النتروجين الجوي إما بشكل حر كما في حالة جنس Azotobacter وانواع البكتريا ضوئية التغذية-العضوية والطحالب الخضراء المزرقة آو الانواع التي تتمكن من تثبيته من خلال تعايش البكتريا مع النباتات كما في الجنس Rhizobium وتعايشها مع

جذور البقوليات وتعايش الجنسAzospirillum مع العائلة النجيلية. ان عملية التثبيت تكون بطيئة وتحتاج إلى طاقة كبيرة .

2- أملاح النتروجين اللاعضوية: تتمثل **بأملاح الامونيوم (آمونيا) والنترات** اذ تستخدمها العديد من الإحياء مثل الطحالب بدائية النواة وحقيقية النواة والبكتريا والابتدائيات ألسوطية كما تستطيع العديد من الإحياء الصناعية في استخدامها. أكثر الأملاح استخداما هي **كبريتات الامونيوم** التي في حالة استعمالها فانها تسبب في تغير ظروف التفاعل لتكون حامضية بسبب استهلاك جذر الامونيوم وتحرر الكبريتات الذي يؤدي الى تكوين حامض الكبريتيك بعد ارتباطها مع جذر الهيدروجين، لذلك فانه غالبا ما يستعمل معها هيدروكسيد الامونيوم أو محلول الامونيا لموازنة الحموضة الناتجة أما الملح الأخر فهو **نترات الامونيوم** الذي في حالة استهلاكه فان الوسط يميل إلى الحموضة أولا إلى أن ينتهي استهلاك الامونيوم ثم تبدأ ألإحياء باستهلاك النترات وعندها تميل إلى القاعدية، كما يستعمل **كلوريد الامونيوم** مع بعض انواع الاحياء المجهرية أما **فوسفات الامونيوم** فانها غالبا ما تستعمل كمصدر للنتروجين والفسفور. كما ان معظم انواع الإحياء المجهرية تتمكن من استخدام الامونيا.

ب- المصادر العضوية: تتنوع المصادر العضوية التي يمكن ان تستعمل في تنمية الاحياء الصناعية ولكنها في الغالب تكون بشكل بروتينات بسيطة أو معقدة أو حوامض امينية أو اميدات أو يوريا. وتعد اليوريا قليلة الاستعمال لارتفاع سعرها وتفككها بالحرارة العالية .

تختلف الخلايا الحية في قابليتها لاستهلاك النتروجين فالخلايا الحيوانية لاتستطيع استخدام المصادر اللاعضوية لأنها لا تتمكن من اختزال النتروجين إلى درجة التكافؤ التي يمكن عندها للنتروجين من دخول الأنظمة الحيوية إي درجة الاختزال المماثلة لدرجة اختزال الحوامض الامينية. إما أملاح الامونيوم فان درجة الاختزال للنتروجين فيها تكون مشابه لدرجة الاختزال في الأنظمة الحيوية لكنه يعد ساما في الخلايا لهذا يجب تزويد الخلايا الحيوانية بالأحماض الامينية اللازمة لتخليق البروتين من المصادر الطبيعية مثل مصل العجول أو الشرش أو مستخلصات البقوليات. وفي حالة الخلايا النباتية فان مزارعها يجب ان تزود بحوامض امينية نقية بمركبات معقدة وأحيانا تضاف بعض المصادر اللاعضوية كأملاح الامونيوم .

أما الإحياء المجهرية فانها تتمكن من استخدام العديد من المصادر النتروجينية العضوية وتعد بانها أفضل من المصادر اللاعضوية اذ أن تزويد الإحياء المجهرية الصناعية بالأحماض الامينية تجعل الخلايا تلجأ إلى العديد من مسارات التخليق الحيوي التي تصرف فيها كميات كبيرة من الطاقة ولكن من الناحية الاقتصادية تكون المصادر اللاعضوية اقل تكلفة. ان من المصادر العضوية المهمة لبعض انواع الاحياء هي النيوكلوتيدات وقواعدها النتروجينية حيث تستطيع ان تستهلكها بعض الهدبيات والسوطيات اذ تعتمد

عليها بشكل كامل. كما ان بعض انواع الاحياء المجهرية تتمكن من استعمال السيانيد من مصادره كمصدر نتروجيني وتعد هذه الية في معاملة الفضلات الحاوية عليه.

من المصادر العضوية الأخرى المستخدمة هي **نقيع الذرة** التي تحتوي أحماض امينية عند 20% منها ولكن من مساوئها هو ظهور ترسبات تتداخل مع قياس نمو الإحياء المجهرية لهذا تجرى بعض المعاملات الأولية للتخلص من المواد المسببة للترسبات مثل أملاح الكالسيوم والمغنيسيوم كما تؤدي هذه المعاملات إلى زيادة حاصل النمو وزيادة نواتج الايض الثانوي مثل إنتاج بعض المضادات. كذلك **نقيع البطاطا** الذي يستعمل في إنتاج بعض المضادات الحيوية كالبنسلين وكذلك مستخلص النخالة، ومن المصادر الاخرى هي مسحوق فول الصويا وفستق الحقل التي تتضمن في تركيبها على كميات كبيرة من البروتينات. فضلا عن ذلك فان مستخلص الخميرة بالإضافة إلى كونها مصدر لعوامل النمو والفيتامينات فانها يمكن الحصول من خلالها على النتروجين عند تحلل خلايا الخميرة وخاصة خميرة الخبز اليي تحضر بشكل مسحوق. ومن المصادر العضوية الاخرى هي مخلفات الأسماك والمجازر.

الأوكسجين

يعد الاوكسجين بانه من العناصر المهمة جدا فهو يدخل في تركيب مكونات الخلية والماء والمصادر الكربوهيدراتية كما أن معظم الخلايا الحية تعد بانها هوائية تستخدم الأوكسجين الجزيئي الذي يعتبر عاملا مؤكسدا قويا تستعمله الخلايا كمستلم للالكترونات إثناء أكسدتها المواد العضوية للحصول على الطاقة. يلاحظ حصول زيادة في الحاجة إلى الاوكسجين عند استهلاك الخلايا للهايدروكربونات وذلك لان الخلايا تحتاج إلى كمية اوكسجين اكبر لقلة وجوده في الهايدروكاربونات تقابلة كمية كاربون عالية التي تكون ذا طاقة عالية.

الهيدروجين

تحتاج الإحياء المجهرية الصناعية الى الهيدروجين بكميات كبيرة حيث انه يدخل في تركيب جميع المكونات الخلوية كما أن بعض البكتريا تستخدمه لإنتاج الطاقة إي يكون بمثابة واهب للالكترونات حيث يستخدم لمليء الجو المحيط بالخلايا اللاهوائية لجعل المحيط مختزل وقليل التهوية ويزود للخلايا من خلال المواد والتراكيب التي تدخل للخلية.

الأملاح والعناصر المعدنية

تعد العناصر المعدنية والاملاح المتكونة منها في غاية الاهمية في تغذية انواع الاحياء المجهرية لاسيما الصناعية، اذ ان كل عنصر من العناصر المعدنية يعد مهما اذ ان كل منها يتميز بدور فعال في نشاط

الخلية من خلال دخوله كعامل مرافق لبعض الأنزيمات او اشتراكة في بعض التراكيب الخلوية فضلا عن ان بعض العناصر تؤدي وظيفة التوازن ألايوني في الخلية.

عوامل النمو

جميع المواد التي تكون عوامل نمو هي عبارة عن مواد عضوية ذات أوزان جزيئية واطئة جدا لا تتمكن بعض الخلايا من تركيبها لذا يجب إضافتها إلى أوساط النمو لتشجيع نمو الخلايا وذلك لتقليل الجهد الواقع على الخلايا لعمليات تخليق مثل هذه المواد. وان من أنواع عوامل النمو هي الاتي:

أ- **الفيتامينات**. تعد الفيتامينات بانها من أهم عوامل النمو التي يكون لها تاثير واضح في فاعلية ونشاطية الخلية الحية وان نقصها يؤدي الى حصول خلل في فعاليتها ونشاطيتها اضافة الى النقص الحاد منها يمكن ان يسبب تثبيط او موت الخلية الحية. تتضمن الفيتامينات نوعين منها هي الذائبة بالماء والذائبة بالدهن واغلبها تعمل كمرافقات إنزيمية والبعض الاخر يدخل في تركيب بعض المركبات الخلوية مثل Inositol الذي يدخل ضمن تركيب اللبيدات الفوسفاتية ويعتمد احتياج الخلايا للفيتامينات على فعالية الخلية كما في حاجة الخمائر إلى بعض الفيتامينات عند نموها لاهوائيا.

ب-**الأحماض الامينية**. ان الدور الرئيس لهذه الوحدات يكون في حاجة الخلايا لها في البناء من خلال تكوين الانزيمات او البروتينات التي تحتاجها الخلية اضافة الى استعمالها في تعويض اجزاء الخلايا او زيادة نشاطيتها وتضاف عند الحاجة إليها بتراكيز بين 310-610 مولر.

ت-**الطلائع أو المواد السابقة Precursors**. هي المركبات التي تستعملها الخلايا في تحويلها الى مركبات حيوية مطلوبة وبذلك فان الغرض من اضافتها يكون في اختصار خطوات تكوين المركب المراد انتاجة كما في إضافة Phenyl-acetic acid لإنتاج أنواع من البنسلين.

ث-**النيوكليوتيدات**. ان بعض انواع الخلايا لاتتمكن من انتاج القواعد النتروجينية او النيوكلوتيدات الا بوجودها من مصادرها، ولما كانت النيوكلوتيدات او القواعد النتروجينية تعد بانها الوحدات الاساسية في البناء الوراثي وتكوين DNA وبالتالي التعبير عن الصفات الوراثية فانها تعد ذا اهمية كبيرة، وان عدم توفرها في الوسط الغذائي يسبب في حصول التطفير في الخلايا الذي يكون ناتجا عن نقص في بعض النيوكلوتيدات او الموت في حالة النقص الشديد. لذلك فان الحاجة اليها من بعض الخلايا يكون مطلقا لأنها لا تتمكن من إنتاجها.

ج-**الهورمونات**. ان الحاجة الى الهورمونات يكون من قبل خلايا الكائنات الراقية فقط كالخلايا الحيوانية او النباتية، ولاتحتاجة خلايا الإحياء المجهرية. ان حاجة الخلايا الحيوانية إلى الهورمونات تكون في انواع

وكميات اكبر من تلك التي تحتاجها النباتية وان عملها يكون في تنظيم عمليات النمو في الخلايا من خلال السيطرة على فعالية بعض الجينات أو من خلال السيطرة على فعالية بعض الإنزيمات أو التحكم في نضوحية الأغشية الخلوية وبالتالي التحكم في تراكيز المواد داخل الخلايا.

يلاحظ أن إضافة أو حذف بعض عوامل النمو يؤدي إلى تغيير مسار العملية الإنتاجية بشكل أساسي في بعض الخلايا اذ ان حالة إنتاج حامض الكلوتاميك (glutamic acid) من قبل بكتريا *Corynebacterium glutamicum* فان نقص البايوتين Biotin يؤدي إلى زيادة نضوحية الأغشية الخلوية وبالتالي نضوح حامض الكلوتاميك خارج الخلية وعدم تركيزه في داخلها، اذ ان زيادة تركيزه يثبط انتاجه.

الأوساط الغذائية

أن الوسط الغذائي يمثل البيئة التي تعيش فيها الخلايا الحية ومنها تشتق المواد الضرورية لبنائها والطاقة اللازمة لفعاليتها الحيوية ومنها ايضا تنتج المواد الحيوية لذلك فمن الضروري ان تتوافر بعض المتطلبات العامة في الاوساط الغذائية كي يمكن ان توفر الظروف الملائمة لنمو الكائنات المنماة عليها والتي منها الاتي:

-توفر الماء -توفر المصدر الكربوني -توفر المصدر النتروجيني-الحاجة الى توفر بعض العناصر او الأملاح حسب نوعية الكائن الحي ونوعية العمليات الإنتاجية -توفر بعض الفيتامينات لبعض الاحياء او لانتاج بعض المركبات -الحاجة الى وجود الأوكسجين في بعض عمليات التصنيع الحيوية .

يمكن تقسيم الأوساط الغذائية المستعملة على النطاقين المختبري او التجاري من ناحية المكونات الداخلة في تركيبها إلى :

1- الأوساط الطبيعية المعقدة: هي الاوساط الغذائية التي تحضر من مواد أولية طبيعية ذات أصل نباتي أو حيواني وتكون تراكيبها الكيماوية غير معروفة .

2- الأوساط التركيبية : هي الاوساط التي يكون تركيبها من المواد الكيماوية المعروفة وبأوزان محددة وان تحضيرها يتم لإغراض خاصة كالحالات البحثية وهي غير مناسبة للإنتاج التجاري لكونها مكلفة.

3- الأوساط شبه التركيبية :- تعد بانها الحالة بين النوعين السابقين من الاوساط حيث يتضمن تركيبها على المكونات الطبيعية ويتم دعمها من خلال إضافة بعض العناصر التي تؤدي دورا معينا في الانتاج الحيوي وتعتبر شائعة الاستعمال في التخمرات الحيوية على النطاق التجاري.

مواصفات الأوساط الغذائية

مما تقدم من خلال معرفة التركيب الذي تتميز به انواع الاوساط الغذائية فانها بشكل عام يجب ان تتضمن مواصفات خاصة كي يمكن ان تعد بانها اوساط غذائية وتؤدي الغرض الذي كونت من اجله والتي منها:

1- يجب أن تنتج الأوساط الغذائية القدر الاكبر من الناتج النهائي المرغوب انتاجه، اذ انه في حالة كون الهدف من العملية الإنتاجية هي لإنتاج نواتج ايضية أولية كالكتلة الحيوية فانه يجب ان تكون مكونات الوسط الغذائي مركبات سهلة الاستهلاك ولها خاصية في تشجيع النمو، أما عندما يكون الهدف من عملية الانتاج هو في انتاج مواد ايض ثانوية فانه يجب ان يوفر الوسط الغذائي السماح للخلايا بالنمو واكمال مرحلة الطور اللوغاريتمي ثم توجيه الكائن المجهري في الوصول الى مرحلة الطور الثابت لتمكينة من انتاج مركبات الايض الثانوي التي تتم من خلال نفاذ أحد المواد الاساسية للنمو او تحرير عناصر في الوسط الغذائي تكون لها تلك الفعالية في الوصول الى طور الثبات وانتاج مركبات الايض الثانوي. حيث عندما يراد إنتاج الإنزيمات فانه يجب الابتعاد عن احتواء الاوساط على المواد التي تسبب عمليات كبح النمو كما في استبدال الكلوكوز في كثير من الأحيان بأحد السكريات البطيئة التخمر أو إضافة النشا المتحلل جزئيا.

2- عدم تشجيع إنتاج مواد غير مرغوب فيها كالسموم اوالصبغات.

3- لا تؤدي الأوساط الغذائية إلى حدوث مشاكل إثناء التخمر كما في حالة زيادة اللزوجة التي تسبب في صعوبة التهوية والتقليب.

4- تصميم الأوساط بحيث تكون النواتج على درجة عالية من النقاوة من خلال محاولة منع حصول التخمرات الجانبية والتي تحصل من خلال توازن المواد ألاساسية للوسط التي تؤدي في الكائن المجهري الى الاستعمال المتوازن لمكونات الوسط وعدم بقاء مخلفات من الوسط لايمكن استهلاكها.

المضافات الى الاوساط الغذائية

تضاف الى الاوساط الغذائية بعض المكونات التي تكون اضافتها لاجل انجاز مهمات خاصة التي منها الاتي:

1. **منظمات النمو.** تضاف منظمات النمو في حالة الحاجة الى المحافظة على اس هيدروجيني pH محدد خلال عمليات التخمر اضافة إلى كونها مواد غذائية لاتؤثر في نمو الكائن المجهري. ان نوعية المنظم المضاف يعتمد على مستوى pH الوسط المطلوب المحافظة عليه.

2. المواد الحاثة. تعد هذه المواد بانها ضرورية للإنتاج الحيوي لاسيما في حالة انتاج الإنزيمات اذ إن اغلب الإنزيمات التجارية المنتجة يكون انتاجها من خلال اضافة المواد الحاثة لانتاجها (induced materials) حيث تخلق الانزيم عند توفر المادة التي يعمل عليها كما في اضافة النشا كمصدر كاربوهيدراتي عندما يراد زيادة إنتاج الاميليزات او اضافة سكر اللاكتوز عندما يراد إنتاج انزيم اللاكتيز وعند إضافة المواد الحاثة لإنتاج الأنزيمات يجب أن تكون الأوساط غنية بالمصادر النتروجينية وغير حاوية على مواد تسبب التثبيط بمواد الأساس مثل الكلوكوز وتضاف هذه المواد بتراكيز قليلة وبصورة مستمرة إثناء عمليات التخمر.

3.مثبطات النمو. تضاف المواد التي تسبب تثبيط النمو في بعض الحالات لتؤدي بعض الإغراض التي منها:

أ- تضاف المضادات الحيوية لبعض الاوساط الغذائية لمنع حصول التلوث لاسيما في حالة استعمال الإحياء بطيئة النمو كالخلايا الحيوانية اوالنباتية.

ب-تضاف بعض المثبطات لتثبيط مسارات معينة كما في إضافة Bisulphate لتثبيط أنتاج الايثانول وتشجيع أنتاج الكلسترول بدلا منه من الخمائر .

ت-تضاف المثبطات لمنع انتاج مركبات الايض الثانوي والوصول الى مرحلة النمو الثابت في الخلايا مما يشجع أنتاج مواد الايض الأولي التي تفرز إلى خارج الخلية عند تجمعها .

ث-تضاف المثبطات لتغيير نضوحية الأغشية والجدران الخلوية مما يؤدي إلى نضوح مواد الايض الأولية كما في إضافة البنسلين عند إنتاج حامض الكلوتاميك.

ج-تضاف المثبطات لإغراض خاصة مثل إضافة البروميد لمنع اندماج الكلور في جزيئه التتراسايكلين والسماح بتكوين مضاد آخر هو Oxytetracycline .

4.المواد السابقة أو الطلائع. هي المواد التي يتم اضافتها الى الاوساط الغذائية لغرض التسريع في انتاج مركبات الايض المرغوبة دون غيرها فضلا عن انه في بعض الحالات يكون الغرض من اضافتها لزيادة كمية الانتاج الحيوي وكذلك تقليل المسارات الايضية التي تستعملها خلايا الاحياء المجهرية لانتاج المنتوج الايضي المراد انتاجه.

5. الخلابات Chelating agents. هي المواد التي تضاف إلى الأوساط الغذائية للعمل على تنظيم تراكيز المواد الثقيلة وجعلها عند المستوى المطلوب من قبل الإحياء المجهرية من خلال ربط المعادن بمجاميع المركبات الحاوية عليها ويكون هذا الارتباط قابلا للرجوع (Reversible) ومن هذه المركبات أملاح

EDTA والمركبات الحاوية على SH وبعض الأحماض الامينية وبعض البروتينات. ومن المواصفات الواجب توفرها بالمخلبيات هي:

أ- أن تكون غير قابلة للاستهلاك من قبل الإحياء المستعملة .

ب- أن لا يكون لها تأثير سام على الخلايا .

ت- أن تؤدي مهمتها بتراكيز قليلة كي لاتؤثر على مكونات الوسط الغذائي.

ث- أن تكون غير قابلة للارتباط مع نواتج التخمر كي لاتسبب تعقيدات في عمليات الفصل للمنتج الحيوي.

6. مضادات الرغاوي Antifoams. تتكون في الكثير من الأوساط الغذائية المعدة للانتاج الحيوي خلال عمليات التخمر رغاوي Foams وتحصل هذه الحالة عندما تكون الاوساط الغذائية المستعملة للانتاج غنية بالبروتينات في تكوينها حيث تحصل دنترة البروتينات وعند التقاء سطح السائل مع الهواء تتكون طبقة لا تتكسر بسهولة مكونة الرغوة والتي تسبب مساوئ منها:-

أ- تسبب في إزاحة الخلايا من الوسط إلى الأعلى مما ينتج عنه تحلل الخلايا وانطلاق مكوناتها إلى الخارج مما يزيد من ثباتية الرغوة .

ب-صعود الرغوة إلى الأعلى يؤدي إلى ترطيب المرشحات الهوائية وإعاقة دخول الهواء الى داخل الوسط مما يؤدي في تثبيط نمو الخلايا الموجودة في داخل الوسط.

ج- صعود الرغوة إلى الأعلى قد يؤدي إلى عدم استهلاك مكونات الوسط من قبل خلايا الاحياء المجهرية مما يسبب في خسارة المنتوج .

هنالك بعض الوسائط التي يمكن من خلالها تقليل أو الحد من تكون الرغوة:

أ- حذف المادة المسببة للرغوة من الوسط او استبدالها إذا كانت لا تؤثر على عملية التخمر.

ب- تغير بعض الظروف مثل تغيير pH أو الحرارة أو التهوية أو التحكم بالتقليب والحفظ أو تكسير الرغوة.

ت- أضافه مواد مضادة للرغوة وذلك عندما تكون الوسائل الأخرى غير مجدية .

تعرف المواد المضادة للرغوة بانها المواد التي تقلل الشد السطحي للسوائل وهي تعمل بشكل تنافسي مع المواد المسببة للرغوة لتحل محلها وهناك بعض المواصفات لمضادات الرغوة منها.

1- أن تكون قادرة على تغليف الرغوة أو إزالتها .

2- أن تكون فعالة بتراكيز قليلة.
3- أن تكون ذات فعالية طويلة الأمد أي تعمل مع طول فترة التخمر.
4- أن لا تكون سامة للإحياء المستعملة في التخمر آو للإحياء التي ستستخدم المنتوج .
5- أن تكون أمينة وسهلة التداول ورخيصة .
6- أن تكون غير قابلة للاستهلاك من قبل الإحياء المضافة الى اوساطها.
7- تفضل المواد التي لا تؤثر على عمليات نقل الأوكسجين .
8- أن تكون قابلة للتعقيم بالحرارة .
9- أن لا تؤثر على عمليات التنقية والاستخلاص وعمليات الإنتاج الأخرى .
10-يفضل إن تكون عديمة اللون والرائحة .

مصادر مضادات الرغوة متعددة لعل اهمها:

أ- مضادات ذات أصل نباتي كزيوت بعض النباتات مثل زيت زهرة الشمس، الخردل، جوز الهند، فول الصويا، القطن والزيتون وغيرها الكثير.

ب- مواد ذات أصل حيواني مثل الشحم الحيواني أو زيت السمك بعد إزالة رائحته.

ت- الكحوليات الخاصة المتعددة التي تكون أوزانها الجزيئية عند 2000 وقد وجد إن خلطها مع الزيوت لاسيما النباتية فانها تعطي نتائج أفضل لذلك تعد الاكثر استعمالا في الوقت الحاضر.

ث- الزيوت المعدنية مثل زيت السليكون الذي يحضر بشكل مستحلب في الماءعند نسبة 10% ويعد ذا كفاءة عالية كون الإحياء المجهرية لاتتمكن من استهلاكه.