



الجمهورية العربية السورية
وزارة التعليم العالي
جامعة حماة
كلية الزراعة

التقنية الحيوية الميكروبية

Microbial Biotechnology

(الجزء العملي)

الجلسة الثامنة

إعداد

الدكتور عبد الواحد الططي



جامعة حماة 2018 - 2019

الصناعات التخمرية (التخميرات الميكروبية) Industrial Fermentation

- إنتاج كحول الإيثانول Production of Ethyl Alcohol:

تتم عملية التخمر بواسطة الكائنات الحية الدقيقة كالجراثيم والفطريات بهدف تصنيع منتجات مفيدة للإنسان حيث تشمل الصناعات التخمرية تطبيقات عديدة منها تصنيع الغذاء والصناعات العامة الأخرى، وتمثل السكريات الركيزة الأكثر شيوعاً لعملية التخمر، ومن أشهر الأمثلة على منتجات التخمر هو الإيثانول وهو مركب كيميائي عضوي ينتمي إلى الكحوليات له الصيغة الكيميائية C_2H_5OH ويسمى الكحول تجميعاً، والإيثانول مادة قابلة للاشتعال عديمة اللون يُستخدم كمطهر ومذيب في العديد من الصناعات الكيميائية والطبية والدوائية وفي صناعة العطور، كما يستخدم حديثاً كمصدر للطاقة ووقود للسيارات والمحركات الميكانيكية وهو أهم وقود حيوي Biofuel يطمح لإنتاجه.

• خواص كحول الإيثانول:

- ✓ الصيغة الكيميائية C_2H_5OH بينما صيغته الجزيئية C_2H_6O .
- ✓ يعتبر مركب قطبي حيث يمتلك القدرة على إنشاء رابطة هيدروجينية بين جزيئاته إذ يدخل في تركيبته مادة توطد أواصر العلاقة بين مكوناته تعرف بالهيدروكسيل.
- ✓ يمتلك كثافة نوعية تقدر 0.816.
- ✓ قابل للغليان عند بلوغه درجة حرارة 80°C .
- ✓ يمتلك معامل انكسار يساوي 1.36242 أكبر من معامل انكسار الماء بنسبة قليلة.
- ✓ يذوب في المذيبات القطبية كالماء حيث يعمل على تكوين روابط هيدروجينية معه.
- ✓ يمتزج مع الماء والجليسرول والأسيتون، والبنزين، والكلوروفورم، وغيرها المذيبات العضوية.
- ✓ تطلق تسمية الإيثانول المطلق على كحول الإيثانول الخالي تماماً من الماء، ويتميز هذا النوع باستحالة الحصول عليه بواسطة عملية التقطير البسيط.
- ✓ يُنتج ثنائي أكسيد الكربون والبخار فور احتراقه باللهب الأزرق الباهت.



❖ الإنتاج الحيوي للإيثانول:

يتم إنتاج الإيثانول كمادة كيميائية نفطية من خلال إضافة الماء إلى الإيثيلين، وحيوياً من خلال تخمير السكر مع الخميرة.

• السلالة الميكروبية المستخدمة:

تستخدم سلالة منتخبة من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* ذات كفاءة عالية في تحويل



السكر إلى كحول إيثيلي، ويكون لها القدرة على تحمل تراكيز عالية نسبياً من السكر والكحول. يحضر البادئ بتتمية السلالة النقية من الخميرة المنتخبة وتنشيطها بإعادة تنميتها عدة مرات على الوسط الغذائي المناسب، وتتم التنمية تحت الظروف الهوائية لتشجيع الخميرة على تكوين

كميات كبيرة من الخلايا حتى يصل حجم اللقاح إلى 4 ليتر ثم ينقل إلى مصنع الإنتاج لاستخدامه كبادئ لإنتاج الكحول.

• المادة الخام المستخدمة:

يجب إجراء معاملة أولية إذا كانت المادة الخام المتوفرة والمستخدمه نشوية مثل القمح والشعير والذرة أو سيليلوزية مثل بقايا صناعة الخشب لتحويلها إلى مواد سكرية تتمكن الخميرة من استخدامها، ويستعمل لذلك الحلمة Hydrolysis باستخدام الحموض أو إنزيم الأميلاز المستخلص من فطر *Aspergillus niger* لحلمة النشاء، أما إذا كانت المادة الخام سكرية مثل المولاس فيتم استخدامه مباشرة بعد تخفيفه دون الحاجة إلى معاملات أولية لأن تحويل السكريات الثنائية إلى غلوكوز تتم بواسطة إنزيم الإنفرتاز Invertase الموجود في خلايا جدار الخميرة.



المولاس

• الظروف المثلى للإنتاج:

يُضبط تركيز السكر في المولاس إلى 12 % لأنّ تركيز السكر في المولاس يبلغ نحو 50 % لذلك يجب تخفيفه لأنّ التركيز الأعلى من ذلك (أكثر من 18 %) يبطئ نمو الخميرة وعملية التخمير كما يبقى جزء من السكر بدون تخمير، والتركيز الأقل (10 %) غير اقتصادي في الإنتاج، ويضاف إلى محلول المولاس المخفف مصدر للنيتروجين مثل كبريتات الأمونيوم ومصدر للفوسفور مثل فوسفات الأمونيوم لأنّ عنصر النيتروجين والفوسفور أساسيان لتغذية الخميرة ويفتقر المولاس لهما. يُضبط درجة pH إلى 4.5 باستخدام حمض الكبريت لأنّ هذه الدرجة تتحملها الخميرة وتمنع نمو العديد من الجراثيم الملوثة، وتضبط درجة الحرارة بين 20-27°م لأنّ درجة الحرارة الأقل من ذلك تؤدي إلى إبطاء عملية التخمير والأعلى من ذلك تؤدي إلى تطاير الكحول ونمو بعض الجراثيم الملوثة.

يجب أن تجري عملية التخمير تحت ظروف لا هوائية حتى يتحول السكر بكفاءة إلى كحول إيثيلي وثنائي أكسيد الكربون، وعادة تبدأ خلايا الخميرة (البادئ) باستهلاك الهواء الذائب في المحلول أولاً ثم تبدأ الظروف اللاهوائية بعد ذلك ويبدأ تحول السكر إلى كحول بدلاً من إنتاج خلايا الخميرة، وتستغرق عملية التخمير كاملة حوالي 48 ساعة في حالة التحكم في توفير الظروف المثلى للإنتاج.

• نظام التخمير لإنتاج الكحول:

يوجد نظامان للتخمير هما نظام تخمر الدفعة الواحدة، ونظام التخمير المستمر:

1- نظام تخمر الدفعة الواحدة Batch fermentation حيث تُضاف خلايا الخميرة (البادئ) بنسبة 5 - 10 % إلى محلول التخمير (يعرف باسم الماش Mash) بعد إعدادهِ وضبط تركيز السكر والحرارة وغيرها، ويترك الماش في المخمر تحت الظروف اللاهوائية 48 ساعة ويستخلص الكحول.

2- نظام التخمير المستمر Continuous fermentation حيث يُضاف المحلول السكري والمواد الغذائية بالتراكيز المناسبة بشكل تيار مستمر وبمعدل زمني ثابت ويسحب الناتج النهائي، وبذلك تصبح عملية التخمير مستمرة غير مرتبطة بزمن معين حيث يتم ضبط ظروف التخمير آلياً.

• استخلاص الكحول:

يتم استخلاص الكحول من محلول التخمير بالنقطير حيث يصل التركيز في البداية إلى حوالي 60-90 % ثم يجري تركيزه إلى أكثر من 95 %، كما ينتج غاز ثنائي أكسيد الكربون كمنتج ثانوي مع إنتاج الكحول، ويتم جمع الغاز وينقى ويضغط في اسطوانات ليستعمل بعد ذلك في صناعة المياه الغازية ومطافئ الحريق والتلج الجاف.



❖ طريقة التحضير في المختبر:

إن طريقة تحضير الإيثانول تختلف بين المختبر وبين المصانع الكبيرة، وسوف نوضح طريقة الاستخراج التي يمكن أن نقوم بها في المختبرات العادية (مختبرات الجامعة).

تتألف العملية من أربعة مراحل:

- 1- نقوم بطحن حبوب الذرة أو القمح في هاون بهدف استخراج النشاء الموجود فيهما.
- 2- مزج الحبوب المطحونة مع الماء الساخن، ثم نضيف الإنزيم المختص بتحويل النشاء إلى سكرور عبر عملية كيميائية تسمى الحلمة Hydrolysis (التحليل المائي).
- 3- نضيف الخميرة الكفيلة بتحويل السكرور إلى الإيثانول.
- 4- عزل الإيثانول من الخليط عبر عملية التقطير، وللتخلص من الماء المتبقي نجري عملية تجفيف، أو إضافة الملح إلى الخليط حيث تقوم جزيئات الملح بالتجمع حول جزيئات الماء وحبسها. تتركز الأبحاث في الوقت الحالي حول طرق استخراج الإيثانول من مصادر أخرى كبقايا الأخشاب أو المحاصيل الزراعية، والمبدأ لا يتغير عن المذكور سابقا لكن الصعوبة تتمثل في عملية الحلمة (التحليل المائي) نظرا لصعوبتها وتعقيدها لدى استعمال بقايا المحاصيل حيث تجري عدة عمليات تحضيرية قبل الوصول إلى عملية التحليل المائي.

تلخيص العملية:

نفسر في هذا الرسم التوضيحي كيفية الوصول للإيثانول عبر الحبوب:

ذرة أو قمح ← نشاء ← التحليل المائي للنشاء ← السكر ← تخمير السكر ← عملية التقطير ← البيوايثانول.

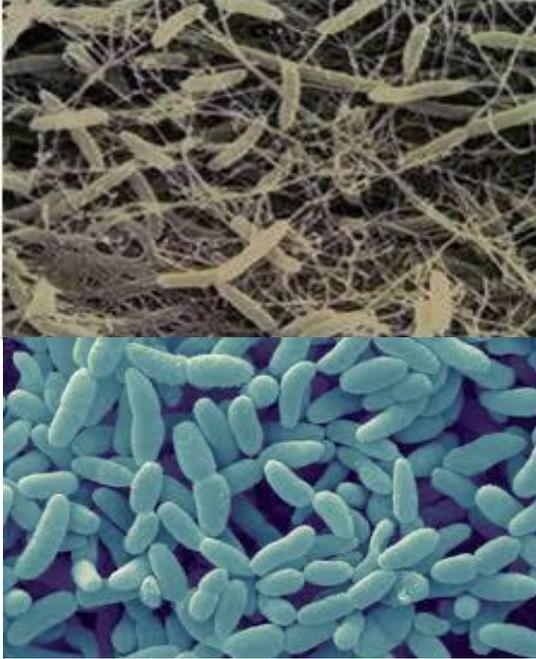
- إنتاج الخل Vinegar Production:

الخل هو محلول من حمض الخليك Acetic acid يحتوي على على مجموعة من المواد الأخرى مثل الأسترات والزيوت الطيارة والجليسرول بكميات قليلة لكنها تعطي للخل نكهة خاصة حسب المادة الخام المصنوع

منها حيث يسمى باسمها مثل خل التفاح والعنب، وتعود النكهة أيضاً إلى نواتج التمثيل الغذائي للجراثيم المستخدمة في عملية التخمر، ونسبة حمض الخليك في الخل تتراوح بين 5 - 8 % . يتم إنتاج الخل من المحلول السكري على مرحلتين:

المرحلة الأولى: تحويل السكر إلى كحول الإيتانول تحت الظروف اللاهوائية بواسطة الخميرة.

المرحلة الثانية: تحويل كحول الإيتانول المتكون إلى حمض الخليك تحت الظروف الهوائية بواسطة جراثيم حمض الخليك وتكوين الخل.

**• السلالة الميكروبية المستخدمة:**

تستخدم سلالة جرثومية من *Acetobacter curvum* تتميز بكفاءة عالية على أكسدة كحول الإيتانول وتحويله إلى حمض خليك، وقدرة على تحمل تراكيز عالية من الكحول وحمض الخليك، وقد يستخدم في الصناعة مجموعة من السلالات الجرثومية ذات الكفاءة العالية بدلاً من استخدام سلالة واحدة.

• المواد الخام المستخدمة:

يمكن استخدام مواد سكرية أو نشوية مختلفة بعد تحويل السكريات التي فيها إلى كحول الإيتانول عن طريق التخمر كالمولاس، ثم يستخدم الكحول كأساس للتخمر وإنتاج الخل.

• الظروف المثلى للإنتاج:

يضببط تركيز الكحول إلى حوالي 12 % لأنّ استخدام تركيز أعلى من ذلك يؤدي إلى عدم تحويل كل الكحول إلى حمض الخليك، وقد لا تتحملة سلالات الجراثيم المستخدمة في التخمر، وفي حالة استخدام تركيز منخفض من الكحول ينخفض إنتاج الخل ويتأكسد إلى ثنائي أكسيد الكربون والماء. تجري عملية تحميض المحلول الكحولي المستخدم في الإنتاج بإضافة خل سابق مركز بنسبة 1 % بغرض تلقیح محلول التخمر بسلالات جراثيم حمض الخليك، ولخفض درجة pH لجعل الظروف غير مناسبة للجراثيم الملوثة. يضاف لمحلول التخمر الكحولي بعض العناصر الغذائية الأساسية لنمو الجراثيم خصوصاً أملاح الأمونيوم والفوسفات كمصدر لعنصري النتروجين والفوسفور، وقد يضاف بعض الفيتامينات وعوامل النمو اللازمة لنشاط الجراثيم. يجب توفير ظروف هوائية شديدة أثناء عملية التخمر لأنّ إنتاج الخل يعتمد على أكسدة الكحول إلى حمض الخليك مما يتطلب توفير الأوكسجين، وأي انخفاض في درجة التهوية يؤدي إلى انخفاض الإنتاج وضعف الجراثيم المستخدمة. تضبط درجة الحرارة بين 27 - 30°م، ويلاحظ أنّ عملية التخمر نفسها ينشأ عنها ارتفاع في درجة الحرارة لذلك يجب مراعاة تبريد المخمر بالوسائل المناسبة حتى لا ترتفع الحرارة التي قد تؤدي إلى تبخر الكحول وحمض الخليك. تحتاج عملية التخمر لإنتاج الخل من 30 ساعة إلى 3 أيام حسب درجة تطبيق الشروط المثلى للإنتاج خصوصاً التهوية. قد يتم تخزين الخل الناتج في أوعية مملوءة تماماً لمنع أكسدة حمض الخليك، ثم يتم ترشيح الخل وضبط تركيزه وتعبئته في زجاجات وبسترتة للتسويق. يوجد طريقتين لإنتاج الخل صناعياً هما الطريقة السطحية والطريقة المغمورة.

انتهت الحاضرة