**تقنيات التخمر**

**\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\***

**سرعة النمو في المزارع المستمرة Growth Rate in Continuous Culture**

قام العالم جاكوب مونود Monod عام 1950 بوضع نظرية حول سرعة النمو في المزارع المستمرة وقد اعتمد فيها على نقطتين مهمة هما:-

**الاولى:**- ان تغيير اعداد الخلايا المايكروبية بمرور الزمن هو تغيير لوغارتمي

معادلة(1)............... 

**الثانية:**- ان سرعة نمو أي مايكروب  هي دالة لتركيز المادة الاساس Substrate [ S ] عندما لا يكون S عاملاً محدداً للنمو فان:-

سرعة النمو تساوي السرعة القصوى اي ان :



وعند تحويل هذه المعادلات الى معادلة واحدة نحصل على:-



ويعرف Ks على انه ثابت التشبع ويساوي عددياً:-

تركيز المادة التي تكون فيها سرعة النمو تساوي نصف سرعة النمو القصوى

µ

ومن خلال معادلة مونود رقم (1) نلاحظ:-

1. ان سرعة النمو تساوي صفراً عندما يكون تركيز المادة الاساس المحددة للنمو = صفر.
2. كلما زادت قيمة [S] كلما اقتربت قيمة  من قيمة  .
3. اذا كانت قيمة S اقل من القيمة التي تحتاجها البكتريا قليلاً، فان مقدار يساوي تقريباً أي ان : 

بموجب هذا يصبح  هي:- الدالة لتركيز المادة الاساس.

ان استمرار عملية ازالة الوسط في المزرعة بنفس المقدار لإضافة وسط جديد يؤدي الى زيادة تخفيف اعداد الميكروبات في الوسط، أي يزداد معامل سرعة التخفيف dilution rate:-



D= dilution rate constant

F= Rate of additional of fresh media

V= volume of the culture vessel

وعليه فان اعداد الخلايا في المزرعة يتأثر بعاملين هما:-

1. ان انقسام الخلايا (x) يزداد في سرعة تعتمد على ():



1. ان اضافة وسط زرعي جديد يقلل من قيمة x ويسبب زيادة التخفيف كما ان سحب كمية من الوسط يؤدي الى سحب عدد من الخلايا أي ان:-



 التغير في اعداد الخلايا سيكون مجموع هذين المتغيرين

أي ان الزيادة في اعداد الخلايا تكون مساوية للنمو – المحصول ( المنتوج)

Increase = growth – output



ومن هذه المعادلة نستنتج ثلاث احتمالات:-

اولاُ:- عندما تكون D اكبر من  فالمكروبات تصبح غير قادرة على اللحاق بالأعداد المطلوبة بسبب تخفيف الوسط الجديد وهذا يعني ارتفاع الخلايا بالوسط وبعد فترة من الزمن ستصل الى حالة washing out أي غسل كل الخلايا في المزرعة وعندها تكون:-

وهنا تكون قيمة**dx/dt** اقل من صفر ( أي ان العلاقة سالبة) :



ثانياً :- عندما تكون :-

فان اعداد الخلايا تبقى ثابته بغض النظر عن تركيز المادة الاساس وتسمى هذه الحالة steady state أي ان:-



وهناك دائماً قيمة ثابته للـ µmax وقيمة ثابته للـ ks التي تعطي حالة الثبات ويسمى مثل هذا النوع المزروع turbidostat:- أي ان المزرعة تبقى فيها الاعداد ثابته دون الاعتماد على تركيز مادة واحدة محددة للنمو ويكون لتنظيم معدل الاضافة للوسط الطازج fresh ومعدل سحب المزرعة (الوسط القديم) فاذا ارتفعت اعداد الخلايا عن الحد المقرر سلفاً يضاف وسط جديد ويسحب من الوسط القديم لتخفيف الاعداد.

ثالثاً:- عندما تكون **D** اصغر من **** فان :-



وهذا يعني زيادة في العدد الكلي للخلايا وعندها يستمر النمو بسرعة  لحين حدوث تغير في الوسط بحيث يصبح احد العناصر عاملاً محدداً فتقل سرعة النمو حتى تصل الى قيمة تكون فيها D= :-

=D





( substrate is the limiting factor)

وتسمى هذه الانواع من المزارع التي يحدد فيها ( عامل غذائي معين) لأعداد الخلايا تسمى chemostat وهنا على العكس من حالة الـ Turbidostal يتم المحافظة على معدلات سحب واضافة ثابتين في الوسط الغذائي الا ان احد المواد المضافة يكون عاملاً محدداً للنمو وبالتالي فان تكاثر الخلايا لا يمكن ان يجري بمعدل اكبر من المسموح به.

وهناك عدة فروق بين الـ chemostat والـ Turbidostat:-

|  |  |
| --- | --- |
| Chemostat | Turbidostat |
| 1- وجود العامل الغذائي المحدد للنمو | 1- لا يوجد |
| 2- كثافة الخلايا تتغير بالحد الادنى مع سرعة التخفيف | 2- كثافة الخلايا تتأثر بشدة مع سرعة التخفيف |
| 3- سرعة النمو اقل من | 3- سرعة النمو = السرعة القصوى |
| 4- يسيطر على المزرعة من خلال سرعة الاضافة للعامل المحدد للنمو | 4- يسيطر عليها من خلال كثافة المزرعة |
| 5- لا يوجد جهاز تحسس sensor | 5- يوجد جهاز للتحسس sensor |

**انواع المزارع المستمرة Types of continuous cultures**

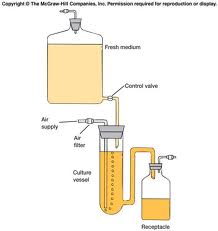
يمكن استعمال انواع مختلفة منها حسب نوع ناتج التخمر المطلوب وهذه الانواع هي:-

1. المزارع المستمرة البسيطة Simple continuous culure:-

وتشمل نوعين هما:-

1. Simple continuous turbidostat.
2. Simple continuous chemostat وفيها توجد مادة محددة للنمو .

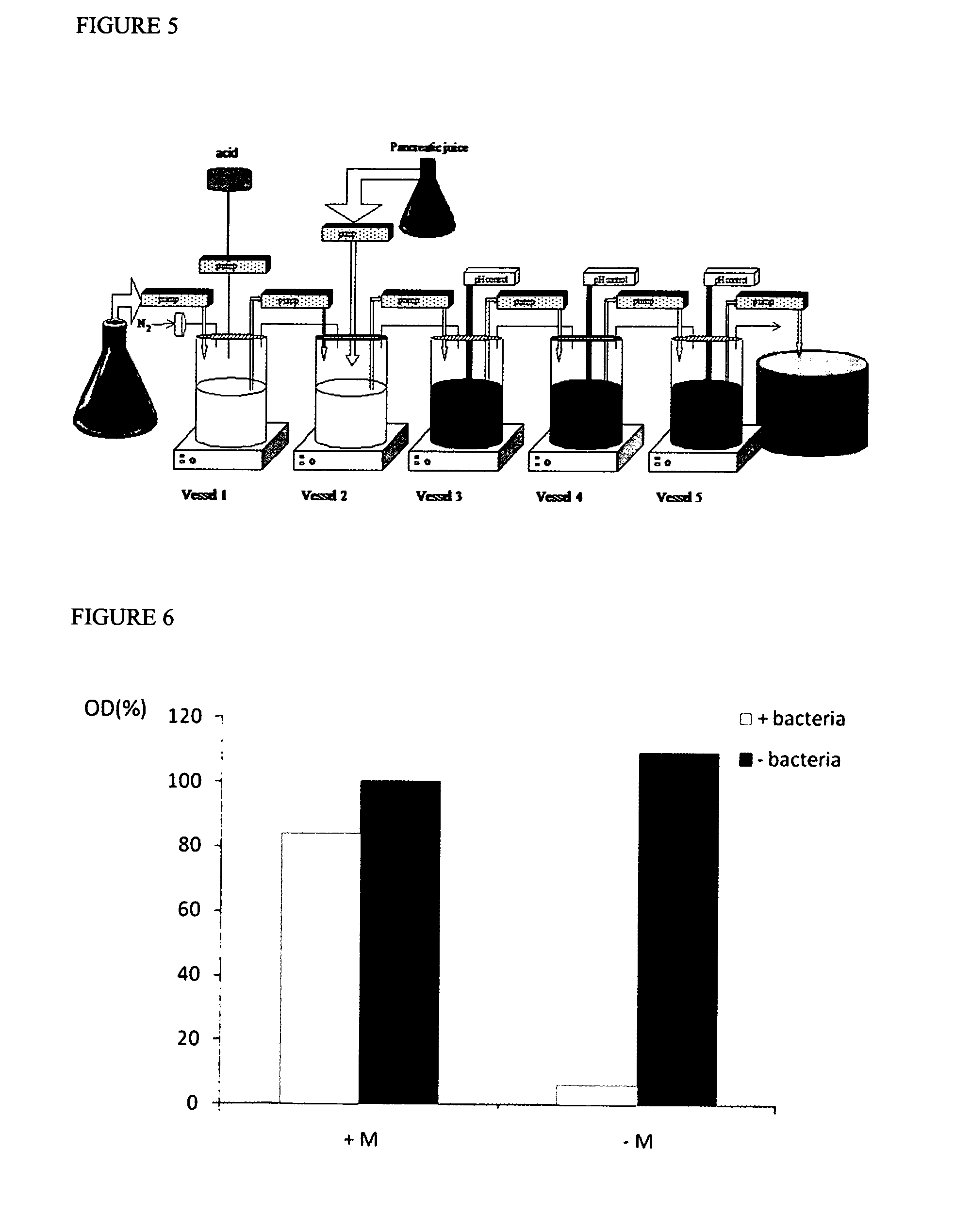
ان ذكر مصطلح بسيطة يعني ان هناك وعاء تخمري واحد تجري فيه عملية التخمر المستمر وان كمية الوسط المسحوب تساوي كمية الوسط المضاف ونمو الخلايا يكون دائماً في الطور اللوغاريتمي .

. 

**شكل يوضح المزرعة المستمرة البسيطة**

1. **Multistage continuous culture:-**

يختلف هذا النوع في المزارع عن مزارع النمو البسيط لكون الوسط الزرعي هنا ينتقل من وعاء الى اخر ومنه الى اخر وهكذا ويمكن اجراء بعض التحويرات الاخرى كإضافة كميات اخرى من الوسط الطازج الى وعاء او اكثر من اوعية الزرع ويمكن اعادة الوسط الزرعي للوعاء الاول مرة اخرى كما في عمليات الحصول على البنسلين، او في حالة الحصول على نواتج ثانوية. وهذا النوع من المزارع اما ان تكون مفتوحة أي ان الناتج النهائي يجمع نواتج في خزائن او تكون مغلقة: أي ان الناتج المأخوذ من الوعاء الاخير يعود الى الوعاء الاول . وعادة يوضع فلتر filter بين وعاء واخر لمنع التلوث .



شكل يوضح منحنى النمو في المزارع المستمرة المتعددة المراحل

ج. **Continuous phase culture synchronous:**

في هذا النوع يكون عمر الخلايا المستخدمة في عملية التخمر متساوية. وهناك طرق عديدة للحصول على مثل هذه المزارع واسهل طريقة هي: انتاج الحجم المطلوب من خلال تمرير الخلايا خلال مرشح معين فنحصل على حجم معين من المايكرو بات متساوية العمر وهنا تجري الاضافة للوسط الزرعي الطازج على دفعات وليس بشكل مستمر ففي نهاية كل دورة يضاف كمية جديدة من الوسط الزرعي وبهذه الطريقة يمكن المحافظة على جميع خلايا المزرعة في طور واحد من النمو.

تستعمل هذه الطريقة في عدد من العمليات التخمرية منها:-

* 1. انتاج الخلايا Biomass كإنتاج الخمائر و single cell protein وخميرة الخبز.
  2. انتاج المواد الاولية للفعاليات الحياتية كالإيثانول وحامض اللاكتيك والاسيتون.
  3. انتاج steroids سيترويدات المهمة في عمليات التحويل الكيميائي  
      chemical transformation.